



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
DOUTORADO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS**

**TRANSMISSÃO INTERESPÉCIES DE LENTIVÍRUS
DE CAPRINOS PARA OVINOS**

THIAGO SAMPAIO DE SOUZA

**SALVADOR - BAHIA
AGOSTO - 2014**

THIAGO SAMPAIO DE SOUZA

**TRANSMISSÃO INTERESPÉCIES DE LENTIVÍRUS
DE CAPRINOS PARA OVINOS**

Tese apresentada ao Programa de
Doutorado em Ciência Animal nos
Trópicos da Universidade Federal da
Bahia, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor em
Ciência Animal nos Trópicos.

Área de Concentração: Saúde Animal

Orientador: Prof. Dr. Joselito Nunes Costa
Coorientador: Prof. Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro

SALVADOR - BAHIA
AGOSTO - 2014

Sistema de Bibliotecas da UFBA

Souza, Thiago Sampaio de.
Transmissão interespécies de lentívirus de caprinos para ovinos / Thiago Sampaio de Souza. -
2014.
123 f.

Orientador: Prof. Dr. Joselito Nunes Costa.
Coorientador: Prof. Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro.
Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e
Zootecnia, Salvador, 2014.

1. Caprino - Doenças. 2. Ovino - Doença. 3. Infecção cruzada. I. Costa, Joselito Nunes.
II. Pinheiro, Raymundo Rizaldo. III. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina
Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

CDD - 636.3089
CDU - 636.3.09

THIAGO SAMPAIO DE SOUZA

**TRANSMISSÃO INTERESPÉCIES DE LENTIVÍRUS
DE CAPRINOS PARA OVINOS**

Tese defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 06 de agosto de 2014.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Joselito Nunes Costa
UFRB
Presidente da Banca

Profa. Dra. Ana Paula Ravazzolo
UFRGS

Prof. Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro
Embrapa Caprinos e Ovinos

Profa. Dra. Karina Medici Madureira
UFBA

Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira
UFRB

**SALVADOR - BAHIA
AGOSTO - 2014**

AGRADECIMENTOS

À minha família e todos aqueles que me apoiaram, meus protetores, sempre ao meu lado.

À minha amada companheira de aventuras sobralenses.

A toda equipe envolvida neste trabalho, orientadores, pesquisadores, professores, técnicos, pós-graduandos, bolsistas, estagiários e tratadores. Registro aqui a minha gratidão e admiração por todos vocês!

Aos amigos que nos receberam tão bem em Sobral, tornando a nossa estada mais agradável, proporcionando momentos muito felizes.

Às instituições executoras: Universidade Federal da Bahia (UFBA), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Embrapa Caprinos e Ovinos e Universidade Estadual do Vale do Acaraú (UVA).

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos da UFBA.

Às instituições de fomento à pesquisa: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

SOUZA, T.S. **Transmissão interespécies de lentivírus de caprinos para ovinos**. 2014. 123p. Tese (Doutorado em Ciência Animal nos Trópicos). Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

RESUMO

A artrite-encefalite caprina (CAE) e a maedi-visna (MV) acometem caprinos e ovinos, respectivamente. Durante anos, os agentes etiológicos dessas enfermidades foram considerados como específicos a cada espécie animal. Entretanto, análises filogenéticas têm demonstrado a heterogeneidade desse vírus, reunindo diferentes genótipos e subtipos em um grupo denominado de lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR). Sendo assim, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar a transmissão interespecífica do lentivírus de caprinos para ovinos, a partir de quatro grupos experimentais. O primeiro (grupo colostro) foi formado por nove cordeiros que receberam colostro de cabras positivas para LVPR. O segundo (grupo leite) foi estabelecido por nove cordeiros que receberam leite dessas cabras. O terceiro foi um grupo controle, constituído por dez cordeiros que mamaram colostro e leite de suas mães negativas. Já o quarto grupo (grupo contato) foi formado por oito ovinos adultos confinados com duas cabras naturalmente infectadas, propiciando a análise de transmissão horizontal. Os grupos foram monitorados por *immunoblotting* (IB), ensaio imunoenzimático (ELISA), imunodifusão em gel de agarose (IDGA) e reação em cadeia da polimerase do tipo *nested* (nPCR). Todos os cordeiros que mamaram colostro e leite de cabras infectadas e seis ovinos do grupo contato apresentaram resultados positivos na nPCR, apesar de soroconversão somente ter sido detectada em três dos 26 animais expostos, não havendo manifestação clínica de lentivirose, em 720 dias de observação. Análises filogenéticas demonstraram estreita relação entre sequências virais obtidas dos animais infectados e sequência do protótipo lentiviral caprino CAEV-Cork. Dessa forma, concluiu-se que os lentivírus foram transmitidos de caprinos para ovinos, entretanto, o grau de adaptação da cepa viral à espécie hospedeira provavelmente interfere na persistência da infecção, taxa de soroconversão e manifestação da doença. Outras avaliações ainda foram conduzidas nos grupos colostro e controle, para estudo da transferência de imunidade passiva colostrar contra LVPR, em cordeiros. Determinaram-se as concentrações de proteína sérica total (PST), albumina (ALB), globulinas (GLOB) e imunoglobulina G (IgG). Em ambos os grupos, as menores médias de PST, GLOB e IgG foram observadas ao nascimento e as maiores médias foram constatadas às 24 horas de vida, devido à absorção de imunoglobulinas colostrais. Para o grupo colostro, a transferência de imunidade também pôde ser constatada pelas provas de imunodiagnóstico. Ao nascimento, os animais estavam soronegativos. Com 24 horas, todos foram reagentes nos três testes sorológicos. Posteriormente, resultados negativos começaram a ser observados, a partir dos 15 dias de idade, pela prova de IDGA. Já pelo teste de ELISA, todos os animais permaneceram reagentes até os 50 dias de vida. Apenas o IB foi capaz de detectar anticorpos anti-LVPR aos 70 dias. Esses dados estão de acordo com a sensibilidade e especificidade de cada prova sorológica e demonstram que aos 90 e 120 dias de idade, anticorpos colostrais anti-LVPR não mais são detectados no soro de cordeiros, com o emprego dessas metodologias.

Palavras-chave: artrite-encefalite caprina, infecção cruzada, LVPR, maedi-visna

SOUZA, T.S. **Interspecies transmission of lentiviruses from goats to sheep.** 2014. 123p. Thesis (PhD., Animal Science in the Tropics) - School of Veterinary Medicine and Zootechny, Federal University of Bahia, Salvador, 2014.

ABSTRACT

Caprine arthritis-encephalitis (CAE) and maedi-visna (MV) affect goats and sheep, respectively. For many years, the etiological agents of these diseases were considered specific to each animal species. However, phylogenetic analyses have demonstrated the heterogeneity of these viruses, bringing the various genotypes and subtypes in a group called small ruminant lentiviruses (SRLV). Thus, the main objective of this study was to evaluate the transmission of caprine lentivirus to sheep, using four experimental groups. The first (colostrum group) was formed by nine lambs receiving colostrum from goats positive for SRLV. The second (milk group) was established by nine lambs that received milk of these goats. The third was a control group, consisting of lambs that suckled colostrum and milk of negative mothers. The fourth group (contact group) was formed by eight adult sheep, confined with two naturally infected goats. The groups were monitored by immunoblotting (IB), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), agar gel immunodiffusion (AGID) and nested polymerase chain reaction (nPCR). All lambs that suckled colostrum and milk of infected goats and six sheep of the contact group had positive results in the nPCR, although seroconversion was detected only in three of the exposed animals, with no clinical lentiviruses manifestation, in 720 days of observation. Phylogenetic analysis showed a close relationship between viral sequences obtained from infected animals and the prototype CAEV-Cork. It was concluded that SRLV have been transmitted from goats to sheep, however, the degree of adaptation of the virus strain to the host species probably interferes with the infection persistence, seroconversion rate and disease manifestation. Further analyzes were also conducted in colostrum and control groups for the study of passive immunity against SRLV in lambs. The concentrations of total serum protein (TSP), albumin (ALB), globulin (GLOB) and immunoglobulin G (IgG) were determined. In both groups, the lowest averages of TSP, GLOB and IgG were observed at birth and the highest averages were observed at 24 hours of life, due to absorption of colostral immunoglobulins. For colostrum group, transfer of immunity could also be detected by immunodiagnostic tests. At birth, the animals were negative. After 24 hours, all animals were positive in three serological tests. Negative results were first observed 15 days after birth by the AGID test. As for ELISA testing, all animals remained reagent until 50 days old. Only IB was able to detect anti-SRLV at 70 days. These data are consistent with the sensitivity and specificity of serological tests and show that at 90 and 120 days of age, colostral antibodies to SRLV are no longer detected in the serum of lambs, with the use of these methodologies.

Keywords: Caprine arthritis-encephalitis, cross-infection, maedi-visna, SRLV

LISTA DE TABELAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

	Página
Tabela 1 - Classificação taxonômica dos lentivírus de pequenos ruminantes apresentando novos subtipos propostos em estudos filogenéticos posteriores ao publicado por Shah et al. (2004a).	33

CAPÍTULO 1

	Página
Tabela 1 - Valores médios de proteína sérica total (PST), albumina (ALB), globulinas (GLOB) e imunoglobulinas G (IgG), em g/dL, de cordeiros submetidos à mamada artificial (G1) e natural (G2) de colostro.	52

CAPÍTULO 2

	Página
Tabela 1 - Número de resultados positivos e negativos obtidos nos testes de PCR <i>nested</i> para lentivírus de pequenos ruminantes, em diferentes grupos experimentais, do momento inicial até 720 dias de experimento.	73
Tabela 2 - Relação entre a quantidade de colostro ingerido por cordeiro e o número de resultados positivos na PCR <i>nested</i> para lentivírus de pequenos ruminantes, durante 720 dias de experimento.	74
Tabela 3 - Relação entre a quantidade de leite ingerido por cordeiro e o número de resultados positivos na PCR <i>nested</i> para lentivírus de pequenos ruminantes, durante 720 dias de experimento.	75
Tabela 4 - Testes sorológicos de <i>immunoblotting</i> (IB), ensaio imunoenzimático (ELISA) e imunodifusão em gel de agarose (IDGA), de três cordeiros infectados pelo lentivírus de pequenos ruminantes, a partir da ingestão de colostro (animais 2 e 11) e leite (animal 24) de cabras positivas.	78

LISTA DE FIGURAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

	Página
Figura 1 - Matéria de capa da Revista Globo Rural, do ano de 1987. Discorre sobre a criação de cabras no Brasil e retrata a perspectiva da época de aumentar a produtividade leiteira, com a importação de animais puro-sangue para o cruzamento com raças locais. Segundo a reportagem, de 1985 a 1987, houve o aumento em 50% do rebanho leiteiro caprino, no Brasil. As principais raças importadas foram Saanen, Toggenburg e Parda-Alpina, oriundas, em sua maioria, de países europeus, com destaque para a França.	19
Figura 2 - Representação esquemática da estrutura do <i>Lentivirus</i> .	20
Figura 3 - Estrutura genômica dos lentivírus de pequenos ruminantes.	21
Figura 4 - Animais com artrite-encefalite caprina apresentando emagrecimento progressivo e aumento do diâmetro das articulações do carpo (A a D). Cabritos com paralisia dos membros posteriores (E e F).	24
Figura 5 - Aglomeração de cabritos neonatos, favorecendo a transmissão do lentivírus de pequenos ruminantes.	27
Figura 6 - Mapa de notificação da maedi-visna à Organização Mundial de Saúde Animal no primeiro semestre de 2013.	29
Figura 7 - Mapa de notificação da artrite-encefalite caprina à Organização Mundial de Saúde Animal no primeiro semestre de 2013.	29
Figura 8 - Soropositividade para lentivírus em ovinos de diferentes regiões no Brasil.	30
Figura 9 - Soropositividade para lentivírus em caprinos de diferentes regiões do Brasil.	30
Figura 10 - Cordeiro mamando em cabra. Cena frequente em criações consorciadas de caprinos e ovinos.	36
Figura 11 - Isolamento de lentivírus de pequenos ruminantes. [A] Sincícios em cultivo de células de membrana nictitante caprina. Aumento de 200X. [B] Destaque para a célula apontada com seta. Aumento de 400X. Coloração de cristal violeta a 0,1%.	37

	Página
Figura 12 - Extração de DNA e reação em cadeia de polimerase (PCR). À esquerda, extração de DNA a partir de leucócitos do sangue periférico para realização da técnica de PCR <i>nested</i> . Seta vermelha aponta precipitação de ácidos nucleicos em etanol absoluto. À direita, gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio, apresentando produtos de amplificação de fragmento-alvo do DNA proviral de lentivírus de pequenos ruminantes, com 187 pares de base (pb). M (marcador DNA ladder 100pb); 1, 2, 3 e 6 (amostras negativas); 4, 5, 7 a 13 (amostras positivas); C+ (controle positivo); C- (controle negativo).	38
Figura 13 - Teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA). ST (soro teste); SP (soro padrão positivo); Ag (antígeno rico em p28). [A] Soros testes negativos; [B] Seta branca aponta para reação fortemente positiva e seta preta destaca reação fraco-positiva; [C] Seta preta apresenta reação inespecífica, havendo o cruzamento de linhas sem identidade.	39

CAPÍTULO 1

	Página
Figura 1 - Resultados dos testes de imunodifusão em gel de agarose (IDGA), ensaio imunoenzimático (ELISA) e <i>immunoblotting</i> (IB), do nascimento aos 120 dias de idade, de nove cordeiros que mamaram <i>pool</i> de colostro de cabras positivas para lentivírus de pequenos ruminantes (G1).	54
Figura 2 - Resultados dos testes de imunodifusão em gel de agarose (IDGA), ensaio imunoenzimático (ELISA) e <i>immunoblotting</i> (IB), do nascimento aos 120 dias de idade, de dez cordeiros que mamaram colostro naturalmente de suas mães negativas para lentivírus de pequenos ruminantes (G2).	56

CAPÍTULO 2

	Página
Figura 1 - Quatro grupos experimentais, em baias isoladas, sob sistema de confinamento, estabelecidos para a avaliação da transmissão interespécies de lentivírus de caprinos para ovinos.	69
Figura 2 - Resultados da PCR <i>nested</i> para lentivírus de pequenos ruminantes, em amostras de sangue de nove cordeiros que mamaram, nas primeiras 24 horas de vida, colostro de cabras infectadas.	73

	Página
Figura 3 - Resultados da PCR <i>nested</i> para lentivírus de pequenos ruminantes, em amostras de sangue de nove cordeiros que mamaram, durante 15 dias, leite de cabras infectadas.	75
Figura 4 - Resultados da PCR <i>nested</i> para lentivírus de pequenos ruminantes, em amostras de sangue de oito ovinos criados em confinamento com cabras infectadas, durante 720 dias.	76
Figura 5 - Filogenia delineada a partir de sequências nucleotídicas parciais do gene <i>gag</i> de lentivírus de pequenos ruminantes. A barra indica a evolução ao longo dos ramos horizontais.	77
Figura 6 - Testes de imunodifusão em gel de agarose com amostras de soro do animal 11. [A] Resultado negativo ao nascimento, antes da mamada do colostro de cabras infectadas por lentivírus. [B] Após 24h, reação positiva devido à absorção de imunoglobulinas colostrais anti-LVPR. [C e D] Aos 7 e 15 dias pós-exposição, reações fraco positivas. [E, F e G) Aos 30, 50 e 330 dias, resultados negativos. [H] Reação fraco positiva aos 390 dias e [I] fortemente positiva aos 480 dias, demonstrando a soroconversão.	77

LISTA DE SIGLAS

A+	Amostra positiva
Ag	Antígeno
ALB	Albumina
BA	Bahia
BIV	Vírus da imunodeficiência bovina (do inglês <i>bovine immunodeficiency virus</i>)
BR	Brasil
C-	Controle negativo
C+	Controle positivo
CA	Capsídeo
CAE	Artrite-encefalite caprina (do inglês <i>caprine arthritis encephalitis</i>)
CAEV	Vírus da artrite-encefalite caprina (do inglês <i>caprine arthritis encephalitis virus</i>)
cDNA	DNA complementar (do inglês <i>complementary DNA</i>)
CE	Ceará
CEUA	Comissão de Ética no Uso dos Animais
CNPC	Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos e Ovinos
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
dL	Decilitro
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês <i>deoxyribonucleic acid</i>)
dNTP	Desoxirribonucleotídeo (do inglês <i>deoxyribonucleotide triphosphates</i>)
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético (do inglês <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>)
EIAV	Vírus da anemia infecciosa equina (do inglês <i>equine infectious anemia virus</i>)
ELISA	Ensaio imunoenzimático (do inglês <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Env	Envelope viral
EUA	Estados Unidos da América
Fapesb	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia
FIV	Vírus da imunodeficiência felina (do inglês <i>feline immunodeficiency virus</i>)
FTIP	Falha da transferência de imunidade passiva
G	Força gravitacional
g	Gramma
G1	Grupo 1
G2	Grupo 2
GLOB	Globulinas
GO	Goiás
gp	Glicoproteína

HIV	Vírus da imunodeficiência humana (do inglês <i>human immunodeficiency virus</i>)
IB	<i>Immunoblotting</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
IDGA	Imunodifusão em gel de agarose
IETS	Sociedade Internacional de Transferência de Embrião (do inglês <i>International Embryo Transfer Society</i>)
IFN	Interferon
IgG	Imunoglobulina G
INT	Integrase
kDa	Kilodaltons
LTR	<i>Long terminal repeats</i>
LVPR	Lentivírus de pequenos ruminantes
MA	Matriz
MA	Maranhão
MG	Minas Gerais
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µM	Micromolar
mL	Mililitro
mM	Milimolar
mm	Milímetro
MN	Membrana de nitrocelulose
MV	Maedi-visna
MVV	Maedi-visna vírus
NC	Nucleocapsídeo
nPCR	Reação em cadeia da polimerase tipo <i>nested</i> (do inglês <i>nested polymerase chain reaction</i>)
nm	nanômetro
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
ORF	Fases abertas de leitura (do inglês <i>open reading frames</i>)
p	Proteína
PA	Pará
PB	Paraíba
pb	Pares de base
PBS	Solução salina fosfatada (do inglês <i>phosphate buffered saline</i>)
PCR	Reação em cadeia da polimerase (do inglês <i>polymerase chain reaction</i>)
PE	Pernambuco
PI	Piauí
pmol	Picomol
PP	Percentual de positividade
PPO	Pneumonia progressiva ovina
PR	Paraná
PRO	Protease

PST	Proteína sérica total
qPCR	Reação em cadeia da polimerase tipo quantitativo (do inglês <i>quantitative polymerase chain reaction</i>)
RJ	Rio de Janeiro
RN	Rio Grande do Norte
RNA	Ácido ribonucleico (do inglês <i>ribonucleic acid</i>)
RS	Rio Grande do Sul
RT	Transcriptase reversa (do inglês <i>Reverse transcriptase</i>)
RT-PCR	Transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase (do inglês <i>reverse transcription polymerase chain reaction</i>)
SC	Santa Catarina
SDS	Dodecil sulfato de sódio (do inglês <i>sodium dodecyl sulfate</i>)
SE	Sergipe
SIV	Vírus da imunodeficiência símia (do inglês <i>simian immunodeficiency virus</i>)
SP	São Paulo
SP	Soro padrão positivo
SRLV	<i>Small ruminant lentiviruses</i>
ST	Soro teste
SU	Superfície
TM	Transmembrânica
TO	Tocantins
U	Unidades
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UVA	Universidade Estadual do Vale do Acaraú
°C	Graus Celsius

SUMÁRIO

	Página
Transmissão interespécies de lentivírus de caprinos para ovinos	
INTRODUÇÃO GERAL.....	16
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
1. Breve histórico acerca dos lentivírus de pequenos ruminantes.....	17
2. Características etiológicas e imunopatogênicas dos LVPR.....	20
3. Achados clínico-patológicos da CAE e MV.....	23
4. Distribuição, ocorrência e transmissão dos LVPR.....	26
5. Transmissão interespecífica de lentivírus entre caprinos e ovinos.....	31
6. Considerações para o diagnóstico laboratorial das lentiviroses de pequenos ruminantes.....	36
7. Aspectos relevantes para a profilaxia e controle das lentiviroses de pequenos ruminantes.....	41
OBJETIVOS.....	44
HIPÓTESE CIENTÍFICA.....	44

CAPÍTULO 1

	Página
Duração da imunidade passiva para lentivírus de pequenos ruminantes em cordeiros	
RESUMO.....	46
ABSTRACT.....	47
INTRODUÇÃO.....	48
MATERIAL E MÉTODOS.....	49
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
CONCLUSÕES.....	56
AGRADECIMENTOS.....	57
REFERÊNCIAS.....	57

CAPÍTULO 2

	Página
Transmissão interespecífica do lentivírus de pequenos ruminantes de caprinos para ovinos	
RESUMO.....	64
ABSTRACT.....	65
INTRODUÇÃO.....	66
MATERIAL E MÉTODOS.....	67
RESULTADOS.....	72
DISCUSSÃO.....	78
CONCLUSÕES.....	82
AGRADECIMENTOS.....	82
REFERÊNCIAS.....	82
CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES.....	94
REFERÊNCIAS.....	97

INTRODUÇÃO GERAL

A caprino-ovinocultura possui grande importância socioeconômica no nordeste brasileiro, pois contribui para o desenvolvimento regional e representa, sobretudo, uma alternativa viável de mudança do cenário de pobreza, presente no semiárido. Essa atividade garante a principal fonte de renda familiar em muitas comunidades, que agregam, em sua maioria, pequenos e médios produtores rurais.

Os dados mais atuais do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) para a produção pecuária no Brasil contabilizaram, em 2012, 16,789 milhões de cabeças de ovinos e um efetivo caprino de 8,646 milhões, destacando-se a Região Nordeste, com 55,5% dos ovinos e 90,7% dos caprinos. Observou-se diminuição dos plantéis em relação aos anos anteriores, devido à seca prolongada. Só de 2011 para 2012, por exemplo, constatou-se queda de 7,9% do efetivo caprino e de 5% do rebanho ovino (BRASIL, 2012). Mas não foram somente os fatores climáticos que prejudicaram o desenvolvimento da cadeia produtiva de pequenos ruminantes. A caprino-ovinocultura também enfrenta problemas sanitários.

Diversas enfermidades acometem comumente os animais, causando prejuízos. Neste contexto, destacam-se aqui os lentivírus de pequenos ruminantes, que dizimaram inúmeros sistemas de caprinocultura leiteira, acometidos pela artrite-encefalite caprina. Esses vírus encontram-se difundidos nos rebanhos de diferentes países e inquéritos epidemiológicos no Brasil têm demonstrado a sua disseminação em vários estados, de forma mais intensa nos caprinos e mais discreta nos ovinos.

Apesar de muito já se ter pesquisado sobre os lentivírus, esse tema torna-se cada vez mais desafiador. Dentre os desafios que ainda precisam ser mais explorados, ressaltam-se a heterogeneidade das cepas virais e a capacidade de adaptação destas aos hospedeiros. Muitas inferências já foram feitas sobre a ocorrência da transmissão interespecífica entre caprinos e ovinos, justificando o estudo sobre a possibilidade de o vírus caprino circulante nos rebanhos nordestinos se disseminar também pelos rebanhos ovinos. Isso por que, em muitas propriedades, há criação consorciada de pequenos ruminantes, o que proporcionaria facilmente a propagação dessa forma de transmissão. Pensando nisso, propôs-se esta tese, com o objetivo principal de elucidar questões acerca da infecção cruzada.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1. Breve histórico acerca dos lentivírus de pequenos ruminantes

Os lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR) são retrovírus não oncogênicos, caracterizados pelo longo período de latência, já que se disseminam no organismo sem sinal clínico por meses ou anos (STRAUB, 2004), provocando enfermidades de curso progressivo, denominadas de artrite-encefalite caprina (CAE) em caprinos e maedi-visna (MV) ou pneumonia progressiva ovina (PPO) em ovinos (ADAMS e CRAWFORD, 1980; PASICK, 1998). Também são lentivírus os vírus da imunodeficiência humana (HIV), símia (SIV), felina (FIV), bovina (BIV) e o vírus da anemia infecciosa equina (EIAV) (LEROUX e MORNEX, 2008; BLACKLAWS e HARKISS, 2010; LEROUX et al., 2010).

Por anos, lentivírus isolados em ovinos foram denominados de maedi-visna vírus (MVV) e em caprinos, vírus da artrite-encefalite caprina (CAEV), sendo comumente considerados como entidades virais específicas. Entretanto, a partir de análises filogenéticas e de evidências de transmissão interespecífica, verificou-se que esses vírus devem ser classificados como um grupo heterogêneo e não mais como vírus estritamente relacionados às espécies, sendo assim denominados genericamente de LVPR (LEROUX et al., 1995; ZANONI, 1998; CASTRO et al., 1999; SHAH et al., 2004a; GERMAIN e VALAS, 2006; GJERSET et al., 2007; PISONI et al., 2007; GIAMMARIOLI et al., 2011).

Os primeiros relatos de lentivirose em pequenos ruminantes retrataram ovinos com pneumonia intersticial crônica e foram realizados na África do Sul, por Mitchel, em 1915 e em Montana, nos Estados Unidos da América (EUA), por Marsh, em 1923 (BRODIE et al., 1998; PASICK, 1998). Posteriormente, condições clínicas caracterizadas por distúrbios respiratórios (“maedi”) e por alterações neurológicas (“visna”) foram descritas na Islândia, após a importação de ovinos da raça Karakul, em 1933, oriundos da Alemanha, visando o melhoramento genético de raças nativas islandesas (STRAUB, 2004).

A partir de estudos epidemiológicos, um médico virologista islandês, Bjorn Sigurdsson, em 1954, concluiu que essas condições foram causadas por vírus “lentos”,

não convencionais, que manifestavam seus efeitos após meses ou anos, daí a denominação de “lentivírus” (CLEMENTS e ZINK, 1996; MOOJEN, 2001). Comparações entre os vírus da “maedi” e da “visna” demonstraram que esses se tratavam do mesmo agente, denominado então de maedi-visna vírus (THORMAR e HELGADOTTIR, 1965).

A CAE foi caracterizada posteriormente à MV, a partir de surto de leucoencefalomielite envolvendo cabritos, relatado nos EUA, por Cork e colaboradores, em 1974 (CLEMENTS e ZINK, 1996; PASICK et al., 1998; CALLADO et al., 2001). Outras condições clínicas incluindo aumento de diâmetro das articulações em adultos passaram a ser descritas, causando grande impacto na caprinocultura leiteira. Devido à sua manifestação, a doença foi designada como síndrome artrite-encefalite caprina e reconhecida internacionalmente como uma lentivirose, em 1980 (ADAMS e CRAWFORD, 1980). O comércio internacional de caprinos leiteiros visando o melhoramento genético contribuiu para a disseminação do vírus por muitos países. No Canadá, França, Noruega, Suíça e EUA, as taxas de soropositividade variaram de 65 a 81% nessa época (DAWSON, 1987a).

No Brasil, a importação de animais, na década de 80, objetivando maximizar a produtividade das raças locais (Figura 1), culminou na introdução dos lentivirus. A ocorrência de soropositividade para LVPR foi relatada pela primeira vez no Rio Grande do Sul (RS), inicialmente em caprinos (MOOJEN et al., 1986) e posteriormente em ovinos (DAL PIZZOL et al., 1989). Nesta mesma década, a CAE foi diagnosticada por achados clínicos e sorológicos na Bahia (BA), em caprinos importados do Canadá (FITTERMAN, 1988). Entretanto, o vírus circulava no país há algum tempo antes dos relatos iniciais, já que amostras de soro de caprinos colhidas entre 1982 e 1988, no Rio de Janeiro (RJ) e testadas anos mais tarde, apresentaram resultados positivos (CUNHA et al., 1995).

Ainda no Brasil, o isolamento viral foi realizado inicialmente de caprinos soropositivos com artrite severa, no RS (HÖTZEL et al., 1993), posteriormente de um cordeiro soronegativo e sem sinais clínicos, também no RS (MOOJEN et al., 1996) e de uma ovelha com sete anos de idade, no Paraná (PR), apresentando artrite, perda de peso progressiva, mastite e corrimento nasal (MILCZEWSKI et al., 1997).

Figura 1 - Matéria de capa da Revista Globo Rural, do ano de 1987. Discorre sobre a criação de cabras no Brasil e retrata a perspectiva da época de aumentar a produtividade leiteira, com a importação de animais puro-sangue para o cruzamento com raças locais. Segundo a reportagem, de 1985 a 1987, houve o aumento em 50% do rebanho leiteiro caprino, no Brasil. As principais raças importadas foram Saanen, Toggenburg e Parda-Alpina, oriundas, em sua maioria, de países europeus, com destaque para a França.

LEITE DE CABRA

Bom até com manga

A desinformação e uma série de preconceitos estão sendo quebradas a lança para multiplicar a produção desse alimento que pode abarrotar o país

Reportagem de Marina Amuril

Você pode achar que é uma questão de gosto: com aquele perfume de bode velho, como é que o leite de cabra pode competir com o leite de vaca? Então se prepare para ir desarmando suas resistências. Cabra não cheira mal, nem seu leite. O bode é que solta esse "perfume" de uma glândula na cabeça, para atrair sexualmente as fêmeas. O cheiro é tão forte que impregna a roupa, os cabelos e tudo o mais em sua volta, mas basta manter o bicho longe das cabras — ou o responsável pela ordenha não tocar em nada que pertença ao bode — que o problema deixa de existir.

Se o leite de cabra é tão bom como o de vaca em sabor, a partir daí o confronto entre ambos começa a se transformar numa surpresa agradável. O leite caprino ganha em teor de proteínas (4% a 3%), de gordura (5% a 4%), em cloreto e potássio. No campo das vitaminas, sofre um gol no complexo B, mas volta a ganhar na C e na D. Há quem imagine o leite de cabra muito pesado, difícil de digerir, mas trata-se de mais um preconceito. Na verdade, apesar de mais rico, ele tem globulos gordurosos menores que os do leite bovino, por isso é mais digestivo e pode ser assimilado com mais facilidade, por exemplo, pelas crianças que não toleram determinados tipos de leite.

Indicar o leite de cabra para os bebês que não podem receber o leite materno é sempre minha primeira opção — revela o dr. Fausto Pacheco, pediatra do Hospital Mater Dei, em Belo Horizonte. — Só não receito para todo mundo porque é mais caro.

De fato, esse é um setor em que o leite de cabra aparentemente apanha feio na comparação: ele entrou na segunda metade do ano custando 30 cruzeiros na praça, contra os 23 cruzeiros do leite tipo B de vaca. Nada de espanto nisso, já que na economia o que

é mais raro é mais caro — e a confrontação das criações leiteiras no Brasil é uma covardia: 60 milhões de bovinos contra apenas 1 milhão de caprinos.

Mas, mesmo no campo econômico, as aparências enganam: o leite de cabra pode ter preço final mais baixo que o de vaca. Não acredita? Querira acompanhar a experiência feita pelo editor-chefe José Hamilton Ribeiro em reportagem para o programa *Globo Rural* na Fazenda Mandacaru, em Alagoas:

Claro que ninguém vai imaginar que um bichinho de 50 quilos pode competir com um de 400. Para uma comparação justa, confrontamos o que poderia ser criado em 1 hectare de pasto: uma vaca ou oito cabras. A vaca leiteira, uma meio-sangue holandesa criada em 30.000 cruzeiros, consumia 10 quilos de feno por dia; o lote de cabras, também meio-sangue europeu, valia um total de 24.000 cruzeiros e comia os mesmos 10 quilos de feno. Um rapaz ordenhou as oito cabras e outro a vaca, depois os baldes foram para a balança. No final, mais uma vitória das cabras, contra todas as apostas: 12 quilos de leite contra 7,2 quilos, quase o dobro!

Além disso, entende alguma coisa de cabra pode para a gente parar: como é que oito cabras podem dar 12 quilos, se a média nacional por cabeça não passa de meio quilo por dia?

A resposta é: não passa, mas vai passar. Nos últimos três anos o rebanho leiteiro caprino aumentou 50% e, sem dúvida, grande parte desse crescimento se deve aos resultados mais que

animadores dos cruzamentos entre animais brasileiros e puro-sangue leiteiros importados da Europa. As cabras meio-sangue que resultam das cruzas já fazem esse desempenho multiplicar várias vezes.

Em Sobral, CE, o Centro Nacional de Pesquisas de Caprinos faz atualmente uma experiência com 51 animais importados, pesquisando as cruzas que melhor se adaptam à criação nordestina. Os técnicos estão convencidos de que, ao conservar a resistência das nativas e incorporar o potencial de raças estrangeiras, o rebanho poderá chegar paulatinamente à marca ideal de 3 quilos por dia. Imagine o que isso representa para o Nordeste, onde se concentram 8 dos 9 milhões de caprinos brasileiros, e o grosso disso em criação extensiva, para carne.

— Não tenho mais dúvidas: o leite de cabra pode resolver o problema da desnutrição infantil no sertão — diz o pesquisador Francisco Arruda, de Sobral.

Para facilitar o melhoramento das raças, os pesquisadores descobriram semelhanças genéticas entre nossas nativas e algumas europeias. A cabra marroquina, por exemplo, seria um parentesco com a saanen, considerada a melhor leiteira do mundo. A moerai, que vive solta na caatinga, quem diria, seria correspondente à parda-alpina. E a canindé naira de braco dado com outra alpina, a point-ville.

Mas essa correspondência não indica necessariamente as melhores raças para os cruzamentos. Tanto que, na lista das três leiteiras europeias preferidas pelos criadores brasileiros para melhorar o potencial genético de seus rebanhos, entram a saanen e a parda-alpina, mas a point-ville cede seu lugar a outra, a toggenburg. As três são originárias da Suíça, embora a importação brasileira seja quase toda da França, campeã da tecnologia no setor.

A seguir, conheça um pouco de cada uma dessas raças que começam a elevar a produtividade de leite do rebanho caprino nacional:

Sanen — A mais renomada raça leiteira do mundo, alisa recordista de produção: 12 quilos num único dia. É uma cabra grande, branca ou creme, extremamente delicada. Acostumada a baixas temperaturas, sofre muito na adaptação ao Brasil, o que dificulta sua criação em larga escala. Por isso, em sendo mais usada como melhoradora genética.

Toggenburg — Está sendo preferida dos criadores brasileiros, que a consideram mais rústica e adaptável do que as outras europeias. Mas isso é só um palpite, não há por enquanto evi-

Filhoes saanen, a raça leiteira mais apreciada do mundo...

... usada e aprovada como melhoradora dos nossos rebanhos

20 GLOBO RURAL, SETEMBRO DE 1987

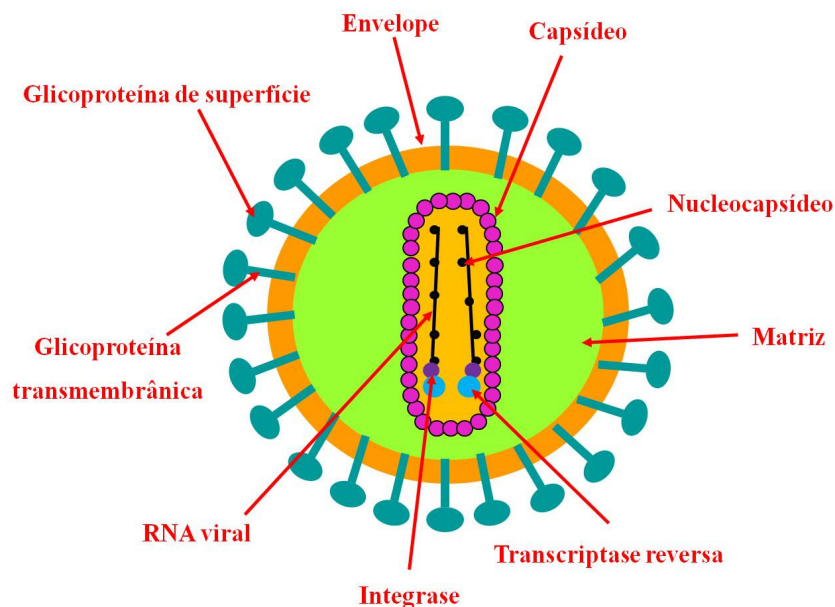
SETEMBRO DE 1987 GLOBO RURAL 21

Fonte: Revista Globo Rural, Nº 24, setembro de 1987, editora Globo.

2. Características etiológicas e imunopatogênicas dos LVPR

Os LVPR fazem parte do gênero *Lentivirus*, que pertence à família *Retroviridae*, possuindo cerca de 80-100nm de diâmetro (Figura 2). O capsídeo dos lentivírus é cilíndrico e não icosaédrico como dos outros retrovírus. O virion possui duas fitas simples lineares de RNA positivo e é envolvido por um envelope derivado da membrana da célula hospedeira (CLEMENTS e ZINK, 1996; LEROUX e MORNEX, 2008).

Figura 2 - Representação esquemática da estrutura do *Lentivirus*.

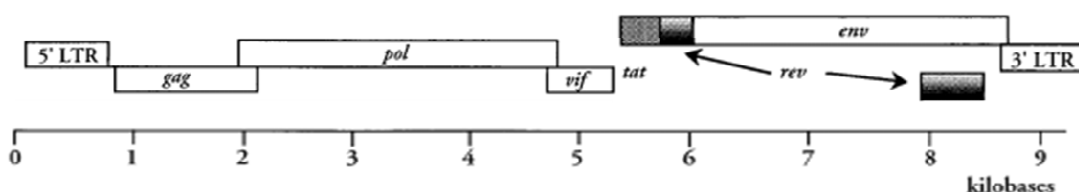


Fonte: elaboração do autor.

Quanto à estrutura genômica (Figura 3), os LVPR possuem genes codificantes para proteínas estruturais (*gag* e *env*), gene codificante para enzimas virais (*pol*) e genes de regulação (*tat*, *rev* e *vif*). O gene *gag* codifica três proteínas: matriz (MA, p19), capsídeo (CA, p28) e nucleocapsídeo (NC, p16); o *env*, glicoproteínas de superfície (SU, gp135) e transmembrânica (TM, gp45) do envelope; o *pol* codifica transcriptase reversa (RT), integrase (INT), protease (PRO), RNase e dUTpase e os genes acessórios *tat*, *rev* e *vif* codificam proteínas não estruturais responsáveis pela regulação da replicação viral. Há ainda duas regiões terminais não codificantes (“long terminal repeats” ou “LTRs”), importantes para o tropismo celular, integração do provírus no

genoma da célula infectada e ativação da transcrição (CLEMENTS e ZINK, 1996; BLACKLAWS e HARKISS et al., 2010; LEROUX et al., 2010; BLACKLAWS, 2012).

Figura 3 - Estrutura genômica dos lentivírus de pequenos ruminantes.



Fonte: Clements e Zink (1996).

No organismo do hospedeiro, a infecção natural por LVPR ocorre a partir do vírus livre ou associado à célula, através da mucosa, principalmente dos tratos respiratório e gastrointestinal. Células dendríticas da mucosa tornam-se infectadas e se deslocam para os linfonodos, nos quais há a transmissão do vírus para macrófagos. Daí, infecção sistêmica pode ocorrer, alcançando inclusive, a medula óssea. Nesta, a infecção de células precursoras leva à produção contínua de monócitos contendo o provírus, contribuindo para a persistência da infecção (BLACKLAWS, 2012).

O vírus penetra nas células-alvo, aderindo-se à membrana celular pela ligação da glicoproteína do seu envelope a receptores específicos (GENDELMAN et al., 1986; MSELLI-LAKHAL et al., 2000). Dentro da célula, a transcriptase reversa, que é uma DNA polimerase RNA dependente, gera DNA de dupla fita (provírus) a partir do RNA viral, que se integra, com a ação da integrase, ao DNA cromossômico da célula hospedeira (DAWSON, 1987b; PASICK, 1998; BRELOU et al., 2007).

A replicação fica restrita nesta primeira etapa, sem produção de proteínas e partículas virais. Promonócitos e monócitos na medula óssea e no sangue são infectados, mas o vírus permanece na forma de DNA proviral. Assim, a infecção persiste, com mínima ativação do sistema imune (BRODIE et al., 1998; LEROUX e MORNEIX, 2008). Estímulo para a produção de novas partículas virais ocorre com a maturação do monócito a macrófago (LEROUX et al., 2010). No processo de diferenciação, quando os monócitos migram do sangue para os tecidos, pode haver ativação da transcrição, com produção de proteínas virais e virions (CLEMENTS e ZINK, 1996).

A infecção por LVPR induz resposta imune inata e adaptativa. Um dos mais importantes mediadores da imunidade inata contra infecção viral é o interferon do tipo I (IFN I), mas a sua indução em células infectadas por retrovírus não é eficiente. Já a resposta imune adaptativa para LVPR é humoral e celular e sua detecção sistêmica pode levar muitos meses. Há o estímulo para produção de anticorpos contra diversas proteínas virais, entretanto, os que poderiam provocar a neutralização, ligando-se a proteínas do envelope (Env), são de baixa avidéz devido à variabilidade antigênica (BLACLAW, 2012).

De qualquer forma, a neutralização viral não afetaria a propagação do agente que pode estar associado à célula, indisponível para os anticorpos. Fato preocupante é que os lentivírus podem utilizar o próprio sistema imunológico para infectar as células, uma vez que macrófagos e células dendríticas possuem receptores Fc para anticorpos e complexos anticorpos-virion podem ser internalizados por esta via, levando à infecção das células-alvo. Apesar de linfócitos T $CD4^+$ e $CD8^+$ serem ativados, a infecção não é debelada e se mantém persistente (BLACKLAW e HARKISS, 2010; BLACLAW, 2012).

Sendo assim, a replicação do vírus ocorre mesmo na presença de resposta imune, provocando lesões imunomediadas (BRODIE et al., 1998). Determinantes antigênicos das glicoproteínas do Env estão envolvidos neste processo imunopatogênico, havendo correlação direta entre o nível de anticorpos anti-Env e o desenvolvimento de lesões (VALAS et al., 2000).

A persistência da resposta anti-LVPR contribui para a infiltração inflamatória crônica nos tecidos, com formação de núcleos de agregação de linfócitos, plasmócitos e macrófagos, principalmente nos pulmões, articulações, glândula mamária e sistema nervoso central (DAWSON, 1987b; PASICK, 1998; ADEDEJI et al., 2013; BENAVIDES et al., 2013). Alterações também podem ocorrer em outros órgãos como rins (ANGELOPOULOU et al., 2006), fígado e coração (BRELLOU et al., 2007).

O vírus não pode ser considerado imunossupressor, pois não altera a relação de linfócitos T $CD4^+$ e $CD8^+$ nem de granulócitos $PG68A^+$. Por outro lado, modifica os padrões de citocinas liberadas pelos macrófagos, interferindo na defesa celular, o que aumenta a suscetibilidade a infecções por determinados patógenos (SANTOS, 2012).

3. Achados clínico-patológicos da CAE e MV

Devido às características etiológicas e patogênicas dos LVPR, a CAE e MV caracterizam-se por serem progressivas, degenerativas, multissistêmicas e crônicas. Nem todos os animais infectados apresentam sinais clínicos (Figura 4), que são mais evidentes em rebanhos com moderada a elevada prevalência (PETERHANS et al., 2004). Fatores como suscetibilidade racial e heterogeneidade das cepas virais podem determinar a manifestação clínica (BENAVIDES et al., 2013).

Tanto a CAE quanto a MV apresentam diferentes manifestações, com quadros clínicos articulares, respiratórios, mamários, neurológicos e de emagrecimento progressivo (PINHEIRO et al., 2012). Em caprinos, a forma articular crônica é a mais frequente, em animais adultos, caracterizando-se pelo aparecimento de claudicação, restrição aos movimentos, posturas anômalas e aumento de volume das articulações, principalmente do carpo e tarso (ADAMS e CRAWFORD, 1980; LARA et al., 2005a).

Na necropsia, verifica-se que a artrite não é supurativa, havendo o espessamento do tecido periarticular e fibrose. A membrana sinovial apresenta-se hiperêmica. Há erosão ou até mesmo ulceração da cartilagem articular e depósito de fibrina. O líquido sinovial pode apresentar coloração vermelho-amarronzada, com viscosidade normal ou reduzida (DAWSON, 1987a; DAL PIZZOL et al., 1989). Microscopicamente, observa-se infiltrado inflamatório constituído predominantemente por linfócitos, havendo também plasmócitos e macrófagos. Folículos linfoides são incomuns nesta forma da doença (PÉREZ et al., 2014).

Surtos de artrite também já foram identificados em rebanhos ovinos com alta prevalência para LVPR, verificando-se animais com aumento moderado a severo do diâmetro das articulações do carpo, apresentando dor à palpação e postura anômala (PÉREZ et al., 2014). Entretanto, a forma respiratória é considerada como a mais importante para ovinos. Os animais apresentam dificuldade respiratória, intolerância ao exercício, emagrecimento crônico e quadros secundários de pneumonia bacteriana (DAWSON, 1987a; ANGELOPOULOU et al., 2005; BENAVIDES et al., 2013).

Figura 4 - Animais com artrite-encefalite caprina, apresentando emagrecimento progressivo e aumento do diâmetro das articulações do carpo (A a D). Cabritos com paralisia dos membros posteriores (E e F).



Fonte: “A” a “D” do arquivo pessoal (2012); “E” e “F” cedidas por Roberta Lomonte L. de Brito (2013).

Na necropsia, ao se abrir a cavidade torácica, não há colapso completo do pulmão, que apresenta consistência firme, podendo alcançar duas a três vezes o peso normal. Podem ser visualizados múltiplos pontos acinzentados. Na ocorrência de infecção bacteriana secundária, exsudato purulento pode estar presente (DAWSON, 1987b; DAL PIZZOL et al., 1989). O exame histopatológico do tecido pulmonar revela pneumonia intersticial crônica, com influxo de linfócitos e macrófagos causando espessamento de septo interalveolar. Há folículos linfóides que frequentemente possuem centros germinativos. Hiperplasia da musculatura lisa da parede dos bronquíolos terminais e dos ductos alveolares também pode estar presente. A ocorrência de neutrófilos indica infecção bacteriana secundária (DAWSON, 1987b; BRELLOU et al., 2007).

A forma mamária caracteriza-se pela presença de nódulos no úbere identificados por palpação, evoluindo para o endurecimento difuso, denominando-se mastite indurativa, havendo ainda diminuição da produção e da qualidade do leite (DAWSON, 1987a; GREGORY et al., 2009a; KONISHI et al., 2011). Microscopicamente, as lesões consistem de hiperplasia linfóide folicular e infiltração de células mononucleares, com fibrose (DAWSON, 1987b; PÉREZ et al., 2014). O aumento do percentual de células CD45⁺/CD14⁺ no leite de cabras infectadas foi demonstrado por citometria de fluxo. Acredita-se que essas células no leite caprino sejam predominantemente macrófagos e o aumento do percentual de macrófagos está relacionado com alterações da expressão de citocinas provocadas pelo vírus, levando ao recrutamento de mais células para o sítio de infecção (SANTOS, 2012).

A ocorrência de sinais neurológicos é mais comum em animais jovens (cabritos e cordeiros). Observam-se leves tremores na cabeça e pescoço, opistótono, torcicolo, nistagmo, paresia gradual do posterior, que progride a paralisia e morte (ADAMS e CRAWFORD, 1980; CRAWFORD e ADAMS, 1981; BENAVIDES et al., 2007). Geralmente não há alterações anátomo-patológicas (DAL PIZZOL et al., 1989). Microscopicamente, observa-se encefalite não supurativa multifocal, havendo infiltração de linfócitos e macrófagos, com formação de manguitos perivasculars e desmielinização (DAWSON, 1987a; BENAVIDES et al., 2007).

Nas formas artrítica, respiratória e mamária, o diagnóstico diferencial deve ser feito para micoplasmose. Ainda na forma respiratória, deve-se diferenciar as lentivirose de pneumonias causadas por outros vírus e bactérias, como adenomatose pulmonar

ovina e linfadenite caseosa. O quadro neurológico precisa ser distinguido de deficiência de cobre, abscessos no sistema nervoso central, listeriose, polioencefalomalácia e *scrapie* nos ovinos (RADOSTITS et al., 2002).

4. Distribuição, ocorrência e transmissão dos LVPR

Os LVPR foram introduzidos em vários países com a importação de animais infectados, visando o melhoramento de raças locais (MOOJEN et al., 1986; DAWSON, 1987a; FITTERMAN, 1988; AYELET et al., 2001; PETERHANS et al., 2004; STRAUB, 2004). Fatores como formação de novos rebanhos, demanda por animais para reposição e aprimoramento genético, sem o controle de doenças infecciosas, propiciaram a sua disseminação (SARAIVA NETO et al., 1995; PINHEIRO et al., 2001; PISONI et al., 2005; SILVA et al., 2005; BANDEIRA et al., 2008).

O ambiente e o manejo possuem papel fundamental na epidemiologia (BROUGHTON-NEISWANGER et al., 2010; SOBRINHO et al., 2010; VILLORIA et al., 2013). Grandes concentrações favorecem a transmissão ao passo que a prevalência é menor em rebanhos extensivos (ROBLES et al., 2003; STRAUB, 2004; SOUZA et al., 2007; BANDEIRA et al., 2008; MARTINEZ et al., 2011; SARDI et al., 2012a; LIMA et al., 2013a).

A principal via de transmissão se dá a partir da ingestão de colostro e leite contaminados, observando-se jovens infectados quando há fêmeas positivas no rebanho (PINHEIRO et al., 2001; LARA et al., 2003; PREZIUSO et al., 2004; ÁLVAREZ et al., 2005; RAVAZZOLO et al., 2006; GREGORY et al., 2009b). A amamentação coletiva é um importante fator de risco, quando não há tratamento térmico do leite e do colostro, facilitando a disseminação do agente infeccioso (MELO e FRANKE, 1997; SILVA et al., 2005; FRAS et al., 2013).

Ressalta-se ainda que a transmissão horizontal entre neonatos é muito eficiente, devido ao período inicial de viremia após a mamada de colostro contaminado (ÁLVAREZ et al., 2006). Soma-se a isto o comportamento característico observado principalmente em cabritos, de ficarem aglomerados (Figura 5) e de “mamarem” uns nos outros, mimetizando o movimento de sucção de leite em diferentes partes do corpo, favorecendo a troca de secreções (GUFLER et al., 2007).

Figura 5 - Aglomeração de cabritos neonatos, favorecendo a transmissão do lentivírus de pequenos ruminantes.



Fonte: arquivo pessoal (2005).

Para animais adultos, o contato prolongado entre infectados e suscetíveis é uma importante forma de transmissão, principalmente em confinamentos. O vírus é eliminado juntamente com secreções, destacando-se aerossóis do trato respiratório (DAWSON, 1987b; MOOJEN, 2001). Inclusive, sequências virais já foram identificadas em água de bebedouros e no ar expirado por animais infectados (VILLORIA et al., 2013). Por conta disso, a transmissão horizontal possui particular importância para ovinos, já que uma das principais manifestações clínicas da doença nesta espécie é a respiratória (BRODIE et al., 1998; HERRMANN-HOESING et al., 2007; BROUGHTON-NEISWANGER et al., 2010).

Quanto à transmissão intrauterina, alguns autores evidenciaram esta rota de transmissão e questionaram a opinião geral de que a transmissão pré-natal é rara (ÁLVAREZ et al., 2005; ÁLVAREZ et al., 2006; LÓPEZ et al., 2012). Inclusive, partículas virais já foram detectadas no fluido uterino de cabras infectadas (CAVALCANTE et al., 2013). Por outro lado, outros estudos demonstraram que a probabilidade de infecção transplacentária do feto é pequena e não deve ser considerada como importante para a disseminação do vírus (BLACKLAWS et al., 2004; LARA et al., 2005b). Deve-se atentar, porém, para a presença do vírus na placenta contaminada pelo sangue materno (PETERHANS et al., 2004), ressaltando-se a possibilidade de infecção durante o parto, a partir da ingestão de secreção uterina e sangue pelo neonato (KONISHI et al., 2011). Há o risco de transmissão também para outros animais, a partir

da exposição a esse fluido contaminado, caso estas fêmeas não estejam isoladas (ANDRIOLI, 2001).

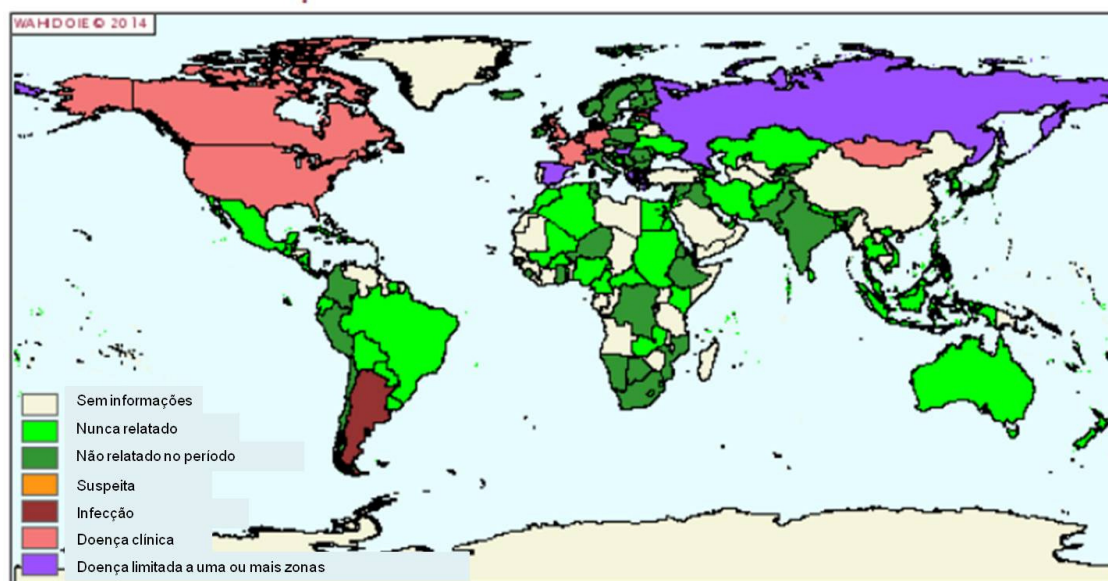
O DNA proviral já foi detectado em amostras seminais (ANDRIOLI et al., 2006; PAULA et al., 2009; GREGORY et al., 2011b), inclusive de caprinos de raças localmente adaptadas, como Moxotó e Canindé (CRUZ et al., 2009a), demonstrando-se a possibilidade de transmissão do vírus a partir de sêmen contaminado (SOUZA et al., 2013). A lesão testicular em animais infectados é um fator que influencia na presença do agente infeccioso no sêmen e embora o risco de transmissão seja maior na monta natural, a inseminação artificial possui potencial para disseminar o agente, pois o vírus pode estar no ejaculado e a lavagem do sêmen reduz, mas não é suficiente para eliminá-lo (ANDRIOLI et al., 2006).

Em relação à transferência de embriões, relata-se que quando o embrião é lavado de acordo com protocolo estabelecido pela Sociedade Internacional de Transferência de Embrião (IETS), não representa risco (ANDRIOLI, 2001; BLACKLAWS et al., 2004). Entretanto, deve-se levar em consideração que a infecção de espermatozoides já foi demonstrada, por imunoistoquímica, presumindo-se a possibilidade desses veicularem o patógeno para o oócito, originando embriões infectados (RICARTE et al., 2010).

O homem pode contribuir para a disseminação viral ao manipular animais infectados e não infectados (PETERHANS et al., 2004), a partir de mãos e roupas contaminadas (ALVAREZ et al., 2005). A transmissão iatrogênica também deve ser considerada pelo uso de ordenhadeiras (BLACKLAWS et al., 2004; KONISHI et al., 2011), agulhas (SILVA et al., 2005), camas, mamadeiras (ALVAREZ et al., 2005) e tatuadores contendo o vírus (LARA et al., 2003).

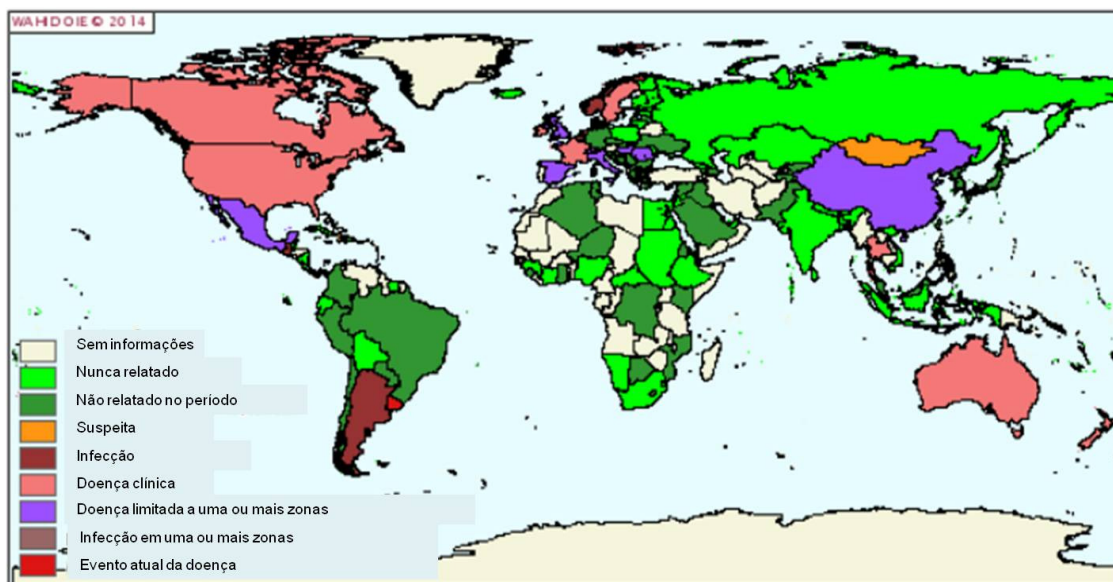
Os LVPR estão disseminados pelo mundo, causando importantes perdas econômicas (ANGELOPOULOU et al., 2005; GUFLER et al., 2007; BENAVIDES et al., 2013). A MV já foi reportada à OIE (Organização Mundial de Saúde Animal) por países como EUA, Canadá, Alemanha, França, Espanha e Rússia (Figura 6). Entretanto, Brasil, México, Austrália, Nova Zelândia e alguns países africanos e asiáticos nunca notificaram internacionalmente a ocorrência da doença. Em relação à CAE (Figura 7), esta enfermidade já foi reportada pelos EUA, Canadá, México, Brasil, Uruguai, Espanha, Reino Unido, China, entre outros, mas nunca notificada por países como Bolívia, Equador, Rússia, Kazaquistão, Índia e Indonésia (OIE, 2014).

Figura 6 - Mapa de notificação da maedi-visna à Organização Mundial de Saúde Animal no primeiro semestre de 2013.



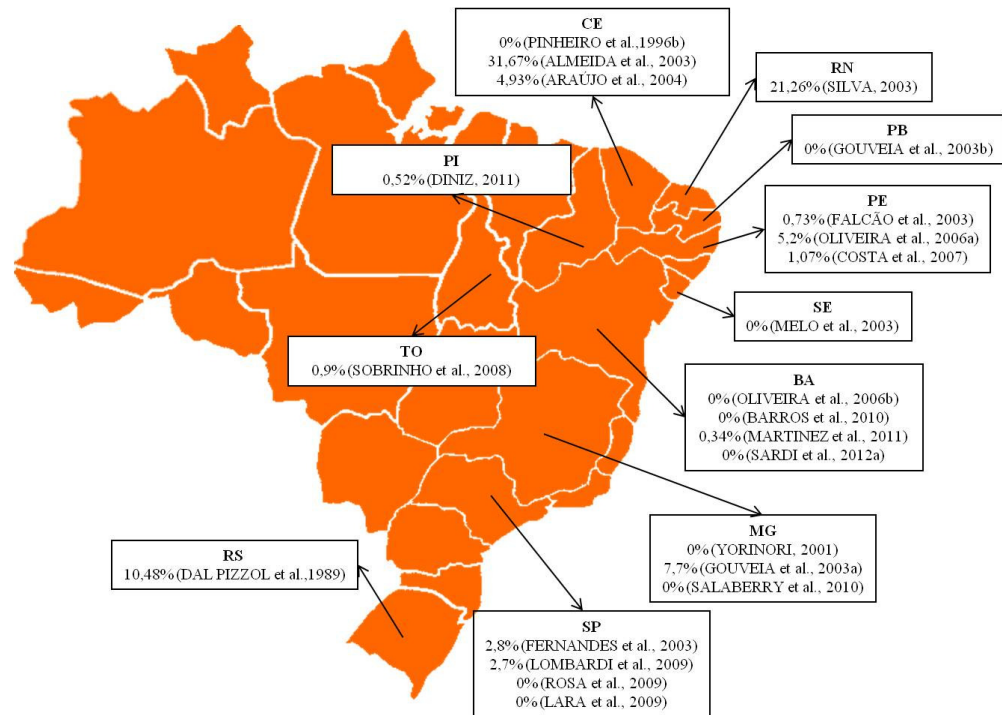
Fonte: www.oie.int (adaptado).

Figura 7 - Mapa de notificação da artrite-encefalite caprina à Organização Mundial de Saúde Animal no primeiro semestre de 2013.

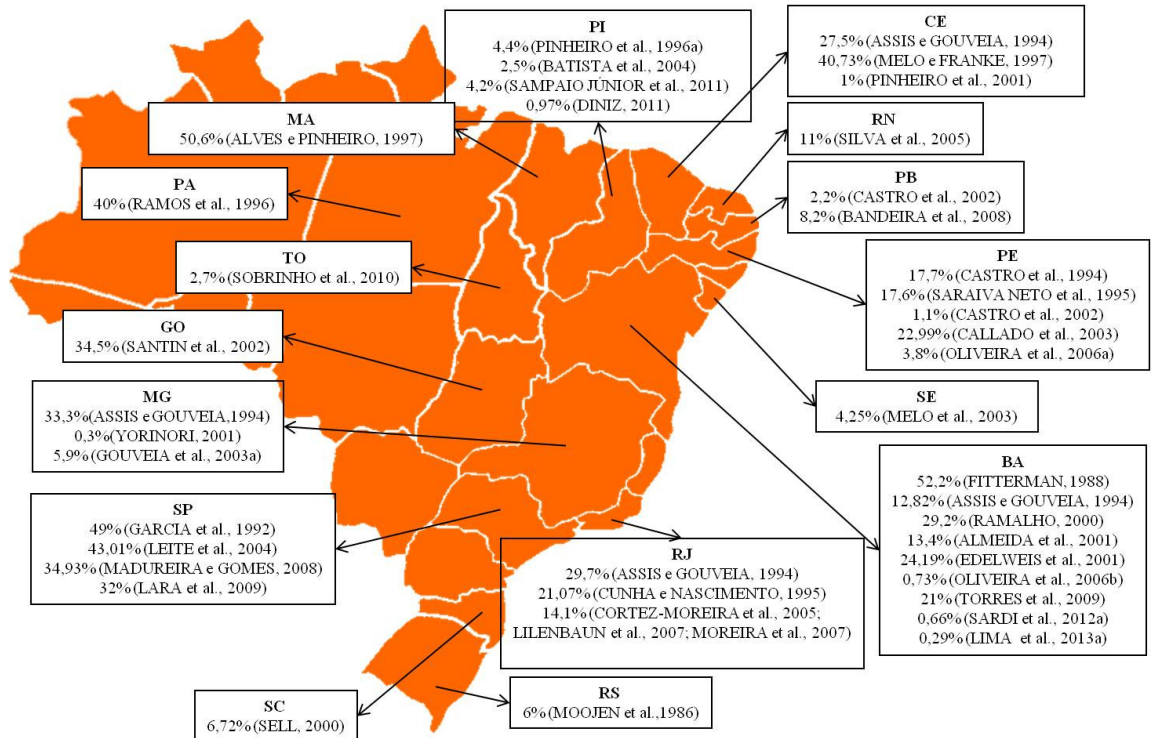


Fonte: www.oie.int (adaptado).

No Brasil, apesar da subnotificação de MV e CAE à OIE, inquéritos sorológicos têm demonstrado a ocorrência dos LVPR em muitas regiões, com frequências variáveis, de acordo com a metodologia de estudo empregada e com as características observadas nos diferentes sistemas de criação (Figuras 8 e 9).

Figura 8 - Soropositividade para lentivírus em ovinos de diferentes regiões do Brasil.

Fonte: elaboração do autor.

Figura 9 - Soropositividade para lentivírus em caprinos de diferentes regiões no Brasil.

Fonte: Adaptado de Lima et al. (2013a).

5. Transmissão interespecífica de lentivírus entre caprinos e ovinos

O CAEV-Cork e o MVV-K1514 são exemplos de protótipos do vírus no caprino e no ovino, respectivamente. Eles são antigenicamente relacionados, mas geneticamente distintos (VALAS et al., 2000; GREGO et al., 2007; L'HOMME et al., 2011). Entretanto, a classificação viral baseada na espécie hospedeira parece ser incorreta, já que diversas análises filogenéticas demonstraram grupos virais heterogêneos relacionados com ambas às espécies (LEROUX et al., 1995; LEROUX et al., 1997; ZANONI, 1998; CASTRO et al., 1999; GREGO et al., 2002; ROLLAND et al., 2002; SHAH et al., 2004a; ANGELOPOULOU et al., 2005; LEROUX et al., 2010; GIAMMARIOLI et al., 2011; OLECH et al., 2012).

Desde os primeiros relatos da CAE, verificou-se a semelhança do vírus e da doença nos caprinos e nos ovinos (ADAMS e CRAWFORD, 1980; DAWSON, 1987a). Experimentalmente, desde a década de 80, se constatou a infecção de cordeiros por CAEV (OLIVER et al., 1982; BANKS et al., 1983; OLIVER et al., 1984) e de cabritos por MVV (BANKS et al., 1983).

A avaliação de sequências genômicas forneceu importantes indícios da habilidade de adaptação dos LVPR para o hospedeiro, demonstrando que a transmissão e disseminação desses vírus são mais complexas que a simples ideia da especificidade à espécie (RAVAZZOLO et al., 2001; GJERSET et al., 2007; GREGO et al., 2007; PISONI et al., 2007). Entretanto, esses achados não negam que algumas cepas são mais bem adaptadas a caprinos e outras a ovinos (REINA et al., 2006) e que a interação entre o vírus e o hospedeiro ocorre diferentemente para essas duas espécies (RACHID et al., 2013).

A variabilidade genética, que está diretamente relacionada com os erros de transcrição do RNA viral pela transcriptase reversa (CALLADO et al., 2001; LEROUX e MORNEX, 2008), não só funciona como instrumento de evasão da resposta imune do hospedeiro, mas também tem como consequência a existência das *quasispecies* virais (PASICK, 1998). O genoma diploide dos lentivírus favorece a recombinação e em casos de coinfecção (PISONI et al., 2010; OLECH et al., 2012; FRAS et al., 2013), pode ocorrer a recombinação gênica entre cepas virais relacionadas aos protótipos MVV e

CAEV, o que contribui para a diversidade genética e influencia na capacidade do vírus de cruzar a barreira interespecies (PISONI et al., 2007).

Quando caprinos e ovinos são criados separadamente, por exemplo, espera-se a circulação de cepas relativamente homogêneas, inclusive mais intimamente relacionadas aos protótipos isolados em cada espécie. Por outro lado, em criações consorciadas, a transmissão cruzada predispõe à ocorrência da variabilidade genética e readaptação viral (L'HOMME et al., 2011). Frente à heterogeneidade e existência de *quasispecies*, classificações dos LVPR foram propostas a partir de estudos filogenéticos de isolados virais, inicialmente demonstrando a existência de ao menos seis grupos, sem clara distinção entre cepas de caprinos e ovinos (ZANONI, 1998).

Posteriormente Shah et al. (2004a) sugeriram uma reclassificação, baseada em sequências dos genes *gag* e *pol*, propondo-se quatro grupos ou genótipos virais (A, B, C e D), alguns contendo subtipos. Nesta categorização, sequências genômicas de um mesmo grupo não divergem em mais de 25% e sequências classificadas dentro de um subtipo divergem em até 15%. O grupo A reúne isolados relacionados ao protótipo MVV e o grupo B, isolados relacionados ao CAEV. Cepas que apresentaram grande divergência com os grupos A e B foram classificadas como C e D. A partir desta proposta inicial de Shah et al. (2004a) e com os avanços nas pesquisas em filogenia, novos grupos e subtipos virais têm sido sugeridos por outros pesquisadores (Tabela 1).

Os primeiros isolados de LVPR, no Brasil, já foram analisados filogeneticamente. As sequências dos lentivírus de caprinos oriundos do Rio Grande do Sul foram similares ao protótipo CAEV e o isolado de um ovino do Paraná foi agrupado com o protótipo MVV (RAVAZZOLO et al., 2001), classificados posteriormente como B1 e A1, respectivamente (SHAH et al., 2004a).

Em Minas Gerais, sequências do gene lentiviral obtidas de rebanhos caprinos leiteiros relacionaram-se filogeneticamente com o CAEV-Cork (CASTRO et al., 1999), classificado como subtipo B1 (SHAH et al., 2004a). Da mesma forma, no Ceará, cepas isoladas de rebanho caprino leiteiro se apresentaram geneticamente estáveis, também pertencendo ao subtipo B1 (FEITOSA et al., 2010).

Já em Pernambuco, vírus isolado de caprino demonstrou maior similaridade genética com o protótipo MVV do que com o CAEV, sugerindo a possibilidade da transmissão interespecies de forma natural (CASTRO et al., 1999). Posteriormente, este

isolado foi classificado como membro do subtipo A1, ao qual pertence a cepa MVV K1514 (SHAH et al., 2004a).

Tabela 1 - Classificação taxonômica dos lentivírus de pequenos ruminantes apresentando novos subtipos propostos em estudos filogenéticos posteriores ao publicado por Shah et al. (2004a).

Grupos	Subtipos	Espécies	Referências
A	A1	Caprinos e ovinos	Shah et al. (2004a) e Grego et al. (2007)
	A2	Caprinos e ovinos	Shah et al. (2004a) e Fras et al. (2013)
	A3	Caprinos e ovinos	Shah et al. (2004a)
	A4	Caprinos e ovinos	Shah et al. (2004a)
	A5	Caprinos	Shah et al. (2004a)
	A6	Caprinos e ovinos	Shah et al. (2004a)
	A7	Caprinos	Shah et al. (2004a)
	A8	Caprinos	Grego et al. (2007)
	A9	Caprinos e ovinos	Grego et al. (2007)
	A10	Caprinos e ovinos	Pisoni et al. (2010)
	A11	Caprinos e ovinos	Giammarioli et al. (2011)
	A12	Caprinos e ovinos	Olech et al. (2012)
	A13	Caprinos e ovinos	Olech et al. (2012)
	A14	Caprinos	Kuhar et al. (2013)
	A15	Ovinos	Kuhar et al. (2013)
B	B1	Caprinos e ovinos	Shah et al. (2004a) e Pisoni et al. (2005)
	B2	Caprinos e ovinos	Shah et al. (2004a)
	B3	Caprinos e ovinos	Bertolotti et al. (2011) e Giammarioli et al. (2011)
C	-	Caprinos e ovinos	Shah et al. (2004a) e Gjerset et al. (2007)
D	-	Caprinos	Shah et al. (2004a)
E	E1	Caprinos	Grego et al. (2007) e Reina et al. (2010)
	E2	Caprinos	Grego et al. (2007) e Reina et al. (2010)

Fonte: elaboração do autor.

Na França, análise filogenética de lentivírus isolados de ovinos demonstrou que esses vírus estavam mais relacionados geneticamente ao protótipo CAEV que ao MVV (LEROUX et al., 1995). Anos mais tarde, constataram-se ovinos naturalmente infectados pelos subtipos B1 e B2, relacionados geneticamente ao CAEV-Cork (GERMAIN e VALAS, 2006). De forma ainda mais surpreendente, na Califórnia (EUA), lentivírus isolado de ovino com quadro multissistêmico (mastite, pneumonia, poliartrite e encefalomelite) agrupou-se com o protótipo lentiviral caprino (ADEDEJI et al., 2013).

Na Espanha, surtos de artrite, mais comuns em caprinos infectados, foram detectados em rebanhos ovinos com alta soroprevalência para LVPR, identificando-se por filogenia o subtipo B2 (GLARIA et al., 2009; PÉREZ et al., 2014). Por outro lado, também na Espanha, já haviam sido isoladas cepas virais em caprinos com maior

proximidade com protótipos do lentivírus ovino (REINA et al., 2006), de forma similar ao que ocorreu na Irlanda (ROLLAND et al., 2002) e Finlândia (LAAMANEN et al., 2007).

Na Suíça, apesar da longa e cara campanha de erradicação da CAE, iniciada na década de 80, caprinos soropositivos continuam sendo detectados. Houve drástica diminuição da manifestação clínica, associada ao genótipo B dos LVPR. Entretanto, verificou-se a re-emergência da soropositividade, mesmo em propriedades consideradas como livres. Isso ocorreu devido à transmissão interespecies do vírus, envolvendo o subtipo A4. Os testes sorológicos empregados na campanha eram deficientes em detectar anticorpos contra este subtipo (SHAH et al., 2004b; DEUBELBEISS et al., 2014).

A heterogeneidade dos LVPR e a transmissão interespecífica também foram demonstradas em rebanhos italianos. Inicialmente verificou-se isolados de ovinos de maior similaridade com cepas caprinas. Este fato foi relacionado à transmissão cruzada do vírus de caprino para ovino e às importações de ovinos da França, onde esta cepa viral já havia sido relatada (GREGO et al., 2002). Posteriormente, constatou-se a presença do subtipo B1 em rebanhos mistos, demonstrando a transmissão interespecies horizontal, ocorrendo naturalmente entre animais adultos (PISONI et al., 2005). Além do subtipo B1, foram também identificados na Itália os subtipos A1, A8, A9, B2 (GREGO et al., 2007), A10 (PISONI et al., 2010), A11 (GIAMMARIOLI et al., 2011), B3 (BERTOLOTTI et al., 2011; GIAMMARIOLI et al., 2011) e o genótipo E (GREGO et al., 2007; REINA et al., 2009b), com dois subtipos, E1 e E2 (REINA et al., 2010).

Na Grécia, isolados de quatro ovinos e um caprino positivos no teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA), oriundos de rebanhos mistos, demonstraram maior similaridade filogenética com sequências genômicas do MVV. Os ovinos apresentaram emagrecimento progressivo e dispneia, sinais característicos de MV, com lesão macroscópica indicativa de pneumonia intersticial. Não foram observados sinais clínicos e/ou lesões macroscópicas no caprino (ANGELOPOULOU et al., 2005).

Já na Noruega, poucos rebanhos ovinos estavam infectados com o lentivírus do grupo A, filogeneticamente relacionado ao MVV. Por sua vez, o grupo C, que até então tinha sido isolado apenas em caprinos, foi detectado em rebanhos ovinos. Isso

demonstrou, enfim, que todos os grupos de LVPR provavelmente podem atravessar a barreira interespecies em ambas as direções (GJERSET et al., 2007, 2009).

No Canadá, a transmissão cruzada inicialmente não ficou evidenciada, uma vez que isolados de caprinos e ovinos foram similares aos protótipos de CAEV e MVV, respectivamente. Este resultado foi justificado pela predominância de rebanhos de uma só espécie, diminuindo a oportunidade de haver transmissão interespecífica (L'HOMME et al., 2011). Posteriormente, estudo feito em rebanhos mistos demonstrou a transmissão do subtipo A2 de ovinos para caprinos bem como do subtipo B1 de caprinos para ovinos, além de animais coinfectados (FRAS et al., 2013).

Na Polônia, mesmo em rebanhos de uma só espécie, verificou-se alta divergência entre as cepas virais, ocorrendo os subtipos A1 e B1 em caprinos e A1 e B2 em ovinos. Inclusive, um caprino apresentou coinfecção pelos subtipos A1 e B1. Além disso, sugeriu-se para a classificação taxonômica, dois novos subtipos virais, A12 e A13, circulando em caprinos e ovinos (OLECH et al., 2012). Novos subtipos (A14 e A15) também foram propostos a partir de cepas virais circulantes na Eslovênia, onde se demonstrou a ocorrência do genótipo A em caprinos e ovinos e do genótipo B apenas em caprinos (KUHAR et al., 2013).

Os fatores de risco mais prováveis para a infecção cruzada estão relacionados à ausência de medidas sistemáticas de controle dos LVPR (GIAMMARIOLI et al., 2011) e à criação consorciada de caprinos e ovinos (GREGO et al., 2002; SHAH et al., 2004b; PISONI et al., 2005; GJERSET et al., 2007; GREGO et al., 2007; GJERSET et al., 2009), incluindo o fornecimento de leite e colostro (Figura 10) contaminados de uma espécie para a outra (PÉREZ et al., 2014), o contato próximo entre essas espécies (OLIVER et al., 1984; PETERHANS et al., 2004) e o uso dos mesmos utensílios (GJERSET et al., 2009; FRAS et al., 2013).

Apesar de os pequenos ruminantes terem sido domesticados há milhares de anos e desde então terem mantido contato próximo com pessoas, não há evidências epidemiológicas nem clínicas de infecções por LVPR em humanos (PETERHANS et al., 2004). A ausência de receptores para LVPR é a principal barreira protetora de células humanas. Entretanto, uma vez dentro da célula, o vírus consegue completar seu ciclo (MSELLI-LAKHAL et al., 2000).

Figura 10 - Cordeiro mamando em cabra.
Cena frequente em criações
conSORCIADAS de caprinos e
ovinos.

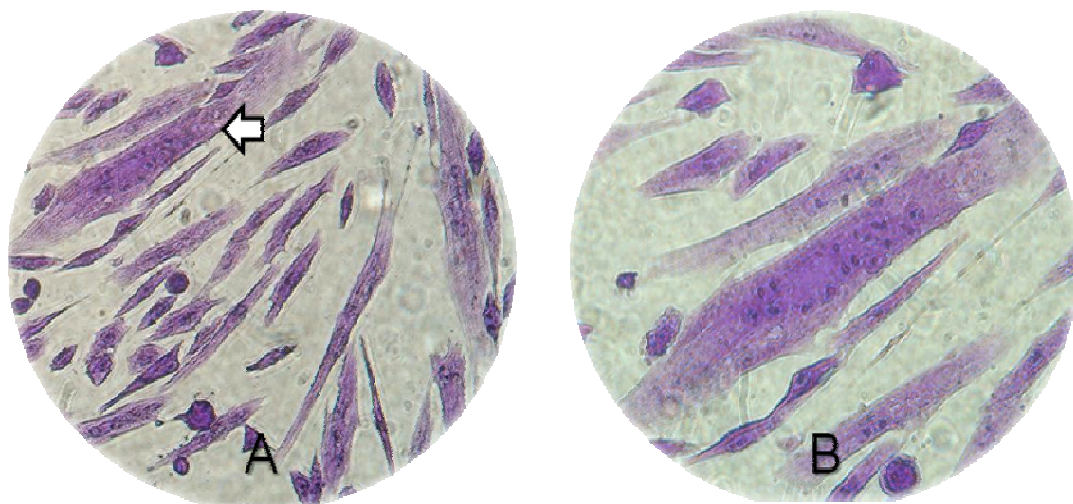


Fonte: Danielle N. S. Pinheiro (2013).

6. Considerações para o diagnóstico laboratorial das lentiviroseS de pequenos ruminantes

As provas laboratoriais se baseiam na detecção direta do vírus (Figura 11), a partir do isolamento em cultivo celular (TIGRE et al., 2006), microscopia eletrônica de transmissão (RICARTE et al., 2010) ou constatação do seu material genético (CASTRO et al., 1999; FROTA et al., 2005; ANDRIOLI et al., 2006; REINA et al., 2006; CRUZ et al., 2009a; GREGORY et al., 2009b) e na detecção indireta, com a identificação de anticorpos contra o agente, realizada principalmente pelas técnicas de imunodifusão em gel de agarose (KNOWLES JR. et al., 1994; ABREU et al., 1998; PINHEIRO et al., 2010), ELISA indireto (CORTEZ-MOREIRA et al., 2005; DANTAS et al., 2008; CRUZ et al., 2009b; TORRES et al., 2009; LIMA et al., 2013b), *immunoblotting* (CRUZ et al., 2003; ARAGÃO et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2008; TESORO-CRUZ et al., 2009; PINHEIRO et al., 2011), *dot blot* (PINHEIRO et al., 2006) e imunofluorescência indireta (LARA et al., 2002; SARDI et al., 2012b).

Figura 11 - Isolamento de lentivírus de pequenos ruminantes. [A] Sincícios em cultivo de células de membrana nictitante caprina. Aumento de 200X. [B] Destaque para a célula apontada com seta. Aumento de 400X. Coloração de cristal violeta a 0,1%.



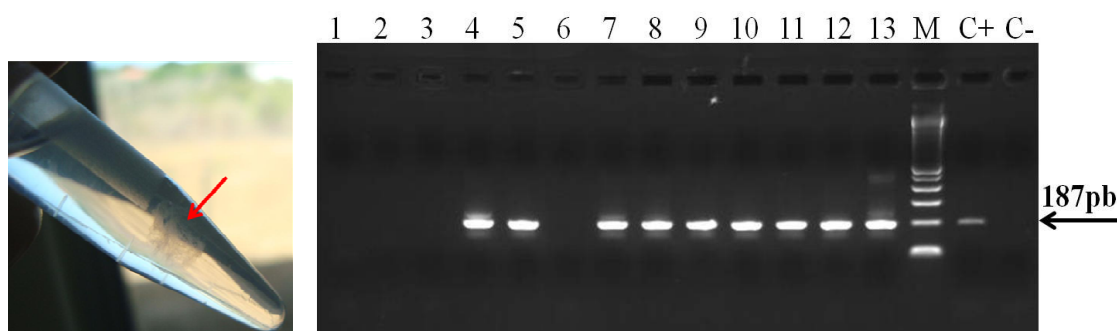
Fonte: Arquivo pessoal (2012).

Os aspectos críticos para a detecção viral incluem a amostra utilizada, carga viral nesta amostra e as propriedades biológicas e genéticas da cepa envolvida (PETERHANS et al., 2004). O teste de reação em cadeia de polimerase (PCR) tem demonstrado maior sensibilidade na fase inicial de infecção, quando a produção de anticorpos é baixa ou mesmo inexistente, o que compromete os resultados de imunodiagnóstico (FROTA et al., 2005). Além disso, é útil para investigar a infecção em animais jovens que possuem anticorpos anti-LVPR colostrais (ÁLVAREZ et al., 2006) ou em animais que não soroconvertem (TIGRE et al., 2006; MODOLO et al., 2009; PAULA et al., 2009). Apesar da heterogeneidade das cepas dos LVPR, a PCR pode amplificar DNA de muitos subtipos, dependendo dos *primers* utilizados (FRAS et al., 2013), demonstrando que a menor sensibilidade em alguns casos está mais relacionada com a carga viral dos animais infectados do que com a diversidade genética de isolados (GREGO et al., 2007).

A PCR do tipo *nested* (Figura 12) aumenta a sensibilidade quando comparada à PCR simples, atentando-se para ocorrência de falsos positivos por contaminação do laboratório com DNA amplificado (PINHEIRO et al., 2012). Quando o objetivo é detectar a partícula viral livre e não o DNA proviral, é necessário realizar a transcrição

reversa seguida de PCR (RT-PCR), purificando inicialmente o RNA viral e transcrevendo-o em DNA complementar (cDNA) (RAVAZZOLO et al., 2006). A carga viral também pode ser quantificada pela PCR do tipo quantitativa (qPCR). Entretanto, neste caso, os *primers* e as sondas utilizadas devem ser desenhados especificamente para sequências genômicas do subtipo viral a ser pesquisado (DEUBELBEISS et al., 2014).

Figura 12 - Extração de DNA e reação em cadeia de polimerase (PCR). À esquerda, extração de DNA a partir de leucócitos do sangue periférico para realização da técnica de PCR *nested*. Seta vermelha aponta precipitação de ácidos nucleicos em etanol absoluto. À direita, gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio, apresentando produtos de amplificação de fragmento-alvo do DNA proviral de lentivírus de pequenos ruminantes, com 187 pares de base (pb). M (marcador DNA ladder 100pb); 1, 2, 3 e 6 (amostras negativas); 4, 5, 7 a 13 (amostras positivas); C+ (controle positivo); C- (controle negativo).



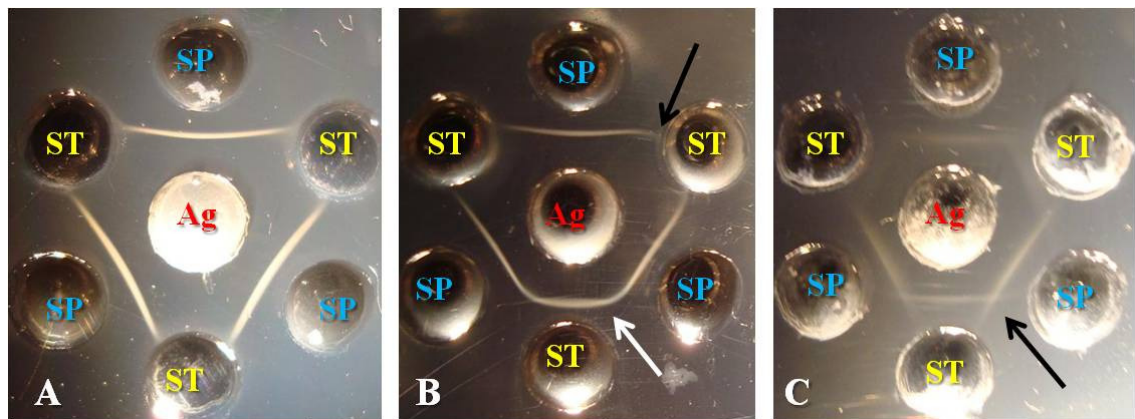
Fonte: arquivo pessoal (2013).

A detecção de animais positivos em provas de imunodiagnóstico necessita do desenvolvimento de resposta imune humoral, que é variável, dependendo do nível de replicação viral em cada animal (TIGRE et al., 2006), observando-se menor tempo médio de soroconversão em rebanhos com maior prevalência (PETERHANS et al., 2004). Por isso, a sensibilidade e especificidade devem ser consideradas para a interpretação dos resultados (GJERSET et al., 2009; LIMA et al., 2013b).

Nesse contexto, ressalta-se a importância da preparação do antígeno para a padronização e validação das técnicas (CELER JR. et al., 1998). No teste de IDGA (Figura 13), por exemplo, a escolha do antígeno pode influenciar marcadamente os resultados (KNOWLES JR. et al., 1994; AYELET et al., 2001). A glicoproteína de

superfície gp135 e a proteína do capsídeo p28 são as principais responsáveis pela formação das linhas de precipitação (PINHEIRO et al., 2010) e alguns animais podem apresentar anticorpos para gp135 na ausência de resposta detectável para p28 e vice-versa. Por isso, a utilização dos dois antígenos, assim como seus respectivos padrões de soro, aumenta a sensibilidade (REISCHAK et al., 2002; PINHEIRO et al., 2006).

Figura 13 - Teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA). ST (soro teste); SP (soro padrão positivo); Ag (antígeno rico em p28). [A] Soros testes negativos; [B] Seta branca aponta para reação fortemente positiva e seta preta destaca reação fraco-positiva; [C] Seta preta apresenta reação inespecífica, havendo o cruzamento de linhas sem identidade.



Fonte: arquivo pessoal (2012).

Outro aspecto a ser considerado para o imunodiagnóstico diz respeito à heterogeneidade dos LVPR. O uso de antígenos recombinantes contendo epitopos imunodominantes específicos pode ajudar a identificar e diferenciar genótipos, por meio de ensaios imunoenzimáticos, detectando-se infecção homóloga (VALAS et al., 2000; GREGO et al., 2002; PETERHANS et al., 2004; GREGO et al., 2007; REINA et al., 2010). Entretanto, isso interfere na sensibilidade e especificidade do teste para levantamentos epidemiológicos, quando não se conhece os genótipos circulantes em uma região. Logo, antígenos preparados a partir da partícula viral inteira pode compensar a heterogeneidade viral devido à variabilidade de epitopos para a reação (REINA et al., 2009b).

Além disso, a produção de antígeno a partir de cepas locais é interessante para melhorar a sensibilidade dos testes (ABREU et al., 1998; REISCHAK et al., 2002;

REINA et al., 2009a). Ressalta-se que o antígeno produzido a partir do lentivírus caprino possui maior sensibilidade para pesquisar anticorpos contra cepas relacionadas ao protótipo CAEV, quando comparado ao antígeno produzido a partir do lentivírus ovino e vice-versa (KNOWLES JR. et al., 1994; ABREU et al., 1998).

Não há um teste sorológico universalmente aceito como “padrão ouro” para o diagnóstico dos LVPR (PETERHANS et al., 2004). Os testes de ELISA (KARANIKOLAOU et al., 2005; DANTAS et al., 2008; TORRES et al., 2009; LIMA et al., 2013b), imunofluorescência indireta (LARA et al., 2002) e *dot-blot* (PINHEIRO et al., 2006) possuem maior sensibilidade que especificidade, considerando a prova de IDGA como padrão. Entretanto, o método mais próximo do “padrão ouro” do imunodiagnóstico para LVPR é o *immunoblotting* (IB), também denominado de *western-blot*, pois apresenta boa combinação entre sensibilidade e especificidade e por isso, é utilizado como prova confirmatória do status sorológico (BRODIE et al., 1998; PETERHANS et al., 2004; PINHEIRO et al., 2011; RODRIGUES et al., 2014).

Em estudos de triagem, quando não se conhece a ocorrência dos LVPR, a técnica de IDGA é a indicada. Entretanto, para programas de controle da enfermidade, recomenda-se a aplicação de provas de imunodiagnóstico mais sensíveis, como o ELISA e o IB, que podem ser associadas a técnicas de PCR, aumentando a eficácia do diagnóstico (ÁLVAREZ et al., 2006; GREGORY et al., 2011a).

A discordância de resultados entre testes de diagnóstico para LVPR é alta e relaciona-se à própria patogenia do agente e à evolução da infecção no animal, com variação da resposta imune humoral e da expressão viral. Por isso, a combinação de diferentes metodologias, imunológicas e moleculares, aumenta a probabilidade de detecção de animal infectado, potencializando os resultados de programas de controle e erradicação (BARQUERO et al., 2013; CAVALCANTE et al., 2013).

A ocorrência de transmissão interespécies influencia na biologia da infecção e interfere na patogenicidade e no diagnóstico. Sendo assim, métodos sorológicos e moleculares podem apresentar diferentes sensibilidades para ovinos e caprinos, independentemente da diversidade viral, devido à interação específica do agente infeccioso com o hospedeiro (BARQUERO et al., 2013; RACHID et al., 2013).

7. Aspectos relevantes para a profilaxia e controle das lentiviroses de pequenos ruminantes

Como a principal forma de infecção de rebanhos livres se dá por meio da introdução de animais portadores, para prevenção e até mesmo controle, deve-se realizar exames dos animais antes de introduzi-los no plantel (ALMEIDA et al., 2003). Entretanto, devido ao período de latência dos LVPR, o melhor a ser feito é adquirir genética melhoradora a partir de estabelecimentos certificados como livres (ROBLES et al., 2003).

Não existem vacinas disponíveis nem terapêutica eficaz (BLACKLAWS, 2012). Por isso, a forma de combater a enfermidade é detectando-se o vírus precocemente nos rebanhos (ALMEIDA et al., 2003; LEROUX e MORNEX, 2009; REINA et al., 2009a). O primeiro passo é realizar sorologia para identificar animais positivos, devendo-se atentar para fatores como a soroconversão tardia (PINHEIRO et al., 2010). Recomenda-se a utilização de teste sorológico periódico, uma a duas vezes por ano (MOOJEN, 2001).

Na determinação do status sorológico de um rebanho, em geral, amostras de sangue são colhidas de animais com mais de seis meses de idade (DAWSON, 1987a; GUFLER et al., 2007; REINA et al., 2009a), já que anticorpos colostrais podem ser detectados por pouco mais de dois meses de vida e a soroconversão ativa é usualmente verificada após esse período (ÁLVAREZ et al., 2005; ÁLVAREZ et al., 2006).

Uma efetiva estratégia de controle em rebanhos de baixa prevalência é o descarte de animais positivos (REINA et al., 2009a). Por outro lado, em situações onde a soropositividade é elevada, o sacrifício de animais para posterior reposição não é aplicável. Nestes casos, a conservação de raça e genética pode ser realizada com a obtenção de um rebanho livre a partir da progênie dos animais infectados (KONISH et al., 2011).

Para tanto, os neonatos devem ser separados no momento do nascimento, impedindo o contato com a saliva da mãe e o acesso ao colostro materno, oferecendo colostro e posteriormente leite bovino (CRAWFORD e ADAMS, 1981; BLACKLAWS et al., 2004; ÁLVAREZ et al., 2005; SILVA et al., 2007; KONISHI et al., 2011) ou

colostro homólogo tratado a 56°C por uma hora e leite pasteurizado (DAWSON, 1987a; SILVA et al., 2007; MODOLO et al., 2009).

Recomenda-se a criação de diferentes rebanhos (positivo e negativo), com duplicidade das instalações e atividades desenvolvidas, descartando-se os animais positivos gradativamente (REINA et al., 2009a). Ressalta-se, entretanto, que essa metodologia implica em altos custos de produção e pode falhar em casos de ocorrência da transmissão intrauterina (MODOLO et al., 2009). De qualquer forma, é uma estratégia que contribui para a diminuição da prevalência no rebanho e controle da enfermidade (LÓPEZ et al., 2012).

Outro fator imprescindível para a eficácia dos programas de controle dos LVPR é a escolha dos testes de diagnóstico que serão empregados, considerando a sensibilidade e especificidade (CRUZ et al., 2003; LIMA et al., 2013b). Nesse sentido, à medida que a taxa de soropositividade em um rebanho diminui, testes de maior sensibilidade tornam-se necessários, pois a taxa de soroconversão, apesar de baixa, é mantida (PINHEIRO et al., 2010). Nessas situações, a combinação de diferentes métodos pode melhorar o desempenho do diagnóstico, aliando-se boa sensibilidade e especificidade (GJERSET et al., 2009; MODOLO et al., 2009; REINA et al., 2009a; BARQUERO et al., 2013; CAVALCANTE et al., 2013; LIMA et al., 2013b; RODRIGUES et al., 2014).

A circulação dos LVPR em sistemas de criação está associada a muitos prejuízos, mais evidentes em propriedades com maiores prevalências. Essas perdas caracterizam-se diretamente pela queda na produtividade, havendo emagrecimento dos animais, diminuição da produção e qualidade do leite, além de comprometimento de parâmetros reprodutivos (BRITO, 2009). Perdas indiretas importantes decorrem da desvalorização dos rebanhos, reposição de animais, despesas com medidas de controle e barreiras comerciais para produtos (PINHEIRO et al., 2001; SOUZA et al., 2013).

Por isso, com a crescente ocorrência de pequenos ruminantes infectados pelo lentivírus no Brasil, faz-se urgente e necessária uma discussão continuada e a implantação de programas estaduais de sanidade (PINHEIRO et al., 2001; REISCHAK et al., 2002; BATISTA et al., 2004; MARTINEZ et al., 2011), já que trata-se de agente infeccioso de difícil e oneroso controle (BRODIE et al., 1998). Soma-se a esta problemática, o potencial de transmissão interespecies.

Na Suíça, o programa de erradicação da CAE teve início na década de 80 de forma voluntária e desde 1998, tornou-se compulsório. Em menos de 15 anos, houve a redução da prevalência de 83%, em 1989, para 1%, em 2002 (SHAH et al., 2004a). Como consequência, as manifestações clínicas em rebanhos caprinos, que estavam associadas ao subtipo B dos LVPR, desapareceram (DEUBELBEISS et al., 2014). Entretanto, criadores, veterinários e autoridades foram surpreendidos com a re-emergência da soroconversão em rebanhos livres durante muitos anos e que seguiam rigorosamente os princípios do programa, prejudicando a campanha de erradicação. Como cerca de 30 a 60% das propriedades mantinham caprinos e ovinos consorciados, suspeitou-se de que a origem da reinfecção dos rebanhos tenha sido ovinos infectados, a partir do subtipo A4 (SHAH et al., 2004b).

Dessa forma, a heterogeneidade e o potencial da transmissão interespecíes dos lentivírus devem ser considerados para o desenvolvimento de programas sanitários de pequenos ruminantes (PISONI et al., 2005; GJERSET et al., 2007; GJERSET et al., 2009), já que é comum, principalmente no nordeste brasileiro, a criação consorciada dessas espécies (PINHEIRO et al., 2004; SOUZA et al. 2007; MARTINEZ et al., 2010).

Por outro lado, a inserção desta tendência na realidade brasileira possui importantes desafios, que se iniciam pelo conhecimento dos genótipos de LVPR que circulam e interagem com os rebanhos de caprinos e ovinos, avaliação da suscetibilidade clínica dessas espécies para os diferentes subtipos virais, bem como determinação do padrão oficial de diagnóstico considerando todas essas peculiaridades.

OBJETIVOS

- Avaliar a transferência e duração da imunidade passiva colostrar contra LVPR em cordeiros.
- Avaliar diferentes condições de exposição para ocorrência de transmissão interespecies do LVPR de caprinos para ovinos.

HIPÓTESE CIENTÍFICA

Cepa de lentivírus de pequenos ruminantes, circulante no nordeste brasileiro, pode ser transmitida de caprinos para ovinos, a partir da ingestão de colostro e leite de animais infectados e por contato prolongado.

CAPÍTULO 1

Duração da imunidade passiva para lentivírus de pequenos ruminantes em cordeiros¹

¹ SOUZA, T.S.; COSTA, J.N.; PINHEIRO, R.R.; LIMA, C.C.V.; MELO, F.C.C.; ANDRIOLI, A.; AZEVEDO, D.A.A.; SANTOS, V.W.S.; OLIVEIRA, E.L.; COSTA NETO, A.O. Duração da imunidade passiva para lentivírus de pequenos ruminantes em cordeiros. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.2, p.845-856, 2014.

Duração da imunidade passiva para lentivírus de pequenos ruminantes em cordeiros

RESUMO

Com a finalidade de avaliar a transferência de imunidade passiva colostrar contra lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR), em cordeiros, este estudo foi conduzido a partir de dois grupos experimentais. O primeiro (G1) foi estabelecido por nove cordeiros submetidos à mamada artificial de *pool* de colostro de cabras positivas para LVPR. O segundo (G2) foi o controle, constituído por dez cordeiros submetidos à mamada natural de colostro das suas mães negativas. Amostras de sangue foram obtidas antes da primeira mamada, após 24h do nascimento e com sete, 15, 30, 50, 70, 90 e 120 dias de vida. Determinaram-se as concentrações de proteína sérica total (PST), albumina (ALB), globulinas (GLOB) e imunoglobulina G (IgG) e anticorpos anti-LVPR foram pesquisados a partir das técnicas de imunodifusão em gel de agarose (IDGA), ensaio imunoenzimático (ELISA) e *immunoblotting* (IB). Em ambos os grupos, as menores médias de PST, GLOB e IgG foram observadas ao nascimento e as maiores médias foram constatadas às 24 horas de vida, devido à absorção de imunoglobulinas colostrais. Para o G1, a transferência de imunidade também pôde ser constatada pelas provas de imunodiagnóstico. Ao nascimento, os animais estavam soronegativos. Com 24 horas, todos foram reagentes nos três testes sorológicos. Posteriormente, resultados negativos começaram a ser observados, a partir dos 15 dias de idade, pela prova de IDGA. Já pelo teste de ELISA, todos os animais permaneceram reagentes até os 50 dias de vida. Apenas o IB foi capaz de detectar anticorpos anti-LVPR aos 70 dias. Em relação ao G2, todos os animais apresentaram resultados negativos nos testes de IDGA e IB, do nascimento aos 120 dias de idade. Esses dados estão de acordo com a sensibilidade e especificidade de cada prova sorológica e demonstram que aos 90 e 120 dias de idade, anticorpos colostrais anti-LVPR não mais são detectados no soro de cordeiros, com o emprego dessas metodologias.

Palavras-chave: Anticorpos colostrais, imunodiagnóstico, lentiviroses, ovinos

Duration of passive immunity to small ruminant lentiviruses in lambs

ABSTRACT

In order to evaluate the passive immunity against small ruminant lentiviruses (SRLV) in lambs, this study was conducted with two experimental groups. The first one (G1) was established by nine lambs subjected to artificial feeding of colostrum from seropositive goats. The second one (G2) was the control group, consisting of ten lambs subjected to suckling of colostrum from their negative mothers. Blood samples were obtained before the first feeding, after 24 hours of birth and at 7, 15, 30, 50, 70, 90 and 120 days of age. The concentrations of total serum protein (TSP), albumin (ALB), globulin (GLOB) and immunoglobulin G (IgG) were determined as well as the presence of antibodies to SRLV by agar gel immunodiffusion (AGID), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and immunoblotting (IB). In both groups, the lowest averages of TSP, GLOB and IgG were observed at birth and the highest ones were observed at 24 hours of life, due to absorption of colostral immunoglobulins. For G1, transfer of immunity could also be detected by immunodiagnostic tests. At birth, the animals were seronegative. After 24 hours, all animals were positive for all serological tests. Negative results were first observed at 15 days of age by the AGID test. For ELISA evaluation, all animals remained reagent until 50 days old. Only IB was able to detect anti-SRLV until 70 days after birth. Regarding G2, all animals tested negative in AGID and IB, from birth until 120 days of age. These data are consistent with the sensitivity and specificity of the serological tests, showing that colostral antibodies to SRLV were no longer detected in the serum of lambs at 90 and 120 days of age with the use of these methodologies.

Key words: Colostral antibodies, immunodiagnostic, lentiviruses, sheep

INTRODUÇÃO

Durante a evolução das espécies, mecanismos de transferência de imunidade da mãe para a prole se desenvolveram para que toda experiência imunológica materna protegesse o filho após o nascimento. Em mamíferos, imunoglobulinas podem ser adquiridas passivamente pelo recém-nascido, através da placenta ou por meio da ingestão de colostro e leite (HURLEY e THEIL, 2011).

No caso dos ruminantes, a placenta do tipo sindesmocorial impede a passagem de proteínas séricas de alto peso molecular, como as imunoglobulinas, da circulação materna para a fetal (FEITOSA, 1999). Por isso, o recém-nascido ruminante nasce hipogamaglobulinêmico, adquirindo anticorpos após a ingestão de colostro (BORGES et al., 2001; SIMÕES et al., 2005; SILVA et al., 2007; SILVA et al., 2010).

O monitoramento da transferência de imunidade é uma medida que pode refletir na redução das taxas de morbidade e mortalidade neonatais em rebanhos ovinos (SILVA et al., 2010), já que a inadequada ingestão de colostro está entre as principais causas de morte em cordeiros no período perinatal (NÓBREGA JÚNIOR et al., 2005). Além disso, a quantidade e qualidade, bem como a precocidade no fornecimento, são fundamentais para a aquisição de bons níveis de imunoglobulinas (SIMÕES et al., 2005; YANAKA et al., 2012).

Por outro lado, a ingestão de colostro e leite pode ser uma importante forma de transmissão de agentes infecciosos, como lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR) (LARA et al., 2003; PREZIUSO et al., 2004; ÁLVAREZ et al., 2005; HERRMANN-HOESING et al., 2007). Estes são retrovírus não oncogênicos (STRAUB, 2004), que infectam principalmente monócitos e macrófagos (GENDELMAN et al., 1986), provocando enfermidades de curso progressivo, denominadas de artrite-encefalite em caprinos (CAE) e maedi-visna (MV) em ovinos (PASICK, 1998; CALLADO et al., 2001; SOUZA et al., 2012).

Em programas de sanidade de pequenos ruminantes, uma das alternativas adotadas para o controle e prevenção dos LVPR é a termização do colostro a 56°C durante uma hora, para destruição das partículas virais (DAWSON, 1987; MODOLO et al., 2009). Este método não prejudica a qualidade do colostro para a transferência de imunidade (SILVA et al., 2007; ELOY et al., 2013), mas deve-se atentar para a

presença de anticorpos anti-LVPR, que serão transferidos, tornando os animais reagentes após a mamada, o que compromete a utilização de testes sorológicos para o diagnóstico (ÁLVAREZ et al., 2005; HERRMANN-HOESING et al., 2007). Ressalta-se que os anticorpos colostrais anti-LVPR não previnem a infecção dos neonatos (ÁLVAREZ et al., 2006).

Logo, o objetivo deste trabalho foi detectar a transferência de imunidade passiva colostrar contra lentivírus de pequenos ruminantes, em cordeiros, avaliando-se a duração da resposta imune adquirida, utilizando-se diferentes testes sorológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos e Ovinos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Caprinos e Ovinos), em Sobral, Ceará, Brasil, com aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual Vale do Acaraú (CEUA/UVA), sob o número 001.12.

Dois grupos experimentais foram constituídos por cordeiros machos e fêmeas, mestiços de raças localmente adaptadas, como Santa Inês e Morada Nova, filhos de matrizes e reprodutores de rebanho ovino livre de LVPR, monitorado por imunodifusão em gel de agarose (IDGA), ensaio imunoenzimático (ELISA), *immunoblotting* (IB) e reação em cadeia da polimerase do tipo nested (PCR *nested*), durante dois anos, a cada quatro meses.

O primeiro grupo (G1) foi estabelecido por nove cordeiros submetidos à mamada artificial exclusiva de *pool* de colostro da primeira ordenha de cabras positivas para LVPR, durante as primeiras 24 horas de vida. A quantidade de colostro fornecida foi de aproximadamente 11% do peso vivo nas primeiras oito horas pós-parto, visando à adequada transferência de imunidade passiva (NÓBREGA JÚNIOR et al., 2005; SIMÕES et al., 2005; YANAKA et al., 2012). Mamadas adicionais ainda foram oferecidas até 24 horas após o nascimento, quando então os animais começaram a mamar diretamente nas suas mães. Durante esse período de 24 horas após o parto, as ovelhas tiveram o úbere ordenhado e os tetos isolados com esparadrapo para impedir a mamada natural. O segundo grupo (G2) foi o controle, constituído por dez cordeiros,

que mamaram colostro naturalmente das suas mães, havendo apenas o monitoramento das mamadas, conforme metodologia descrita por Silva et al. (2010).

Cada grupo permaneceu em baias isoladas, em sistema de confinamento, recebendo alimentação volumosa e concentrada em cocho, além de água à vontade e suplementação mineral. Todos os cordeiros foram monitorados clinicamente, por meio de exame físico, hemograma e parasitológico de fezes, como forma de manejo sanitário. Aos 90 dias de vida, houve o desmame. Amostras de sangue foram obtidas antes da primeira mamada, após 24 horas do nascimento e com sete, 15, 30, 50, 70, 90 e 120 dias de vida, por venopunção da jugular, com antisepsia, em sistema a vácuo, utilizando-se tubos sem anticoagulante. Após formação de coágulo, os tubos foram centrifugados a 1.500G, por 10 minutos, acondicionando-se o soro a -20°C.

Nas amostras coletadas até os primeiros 30 dias de vida, foram determinadas as concentrações (g/dL) de proteína sérica total (PST) e albumina (ALB), pelos métodos colorimétricos de reação com o biureto e do verde de bromocresol, respectivamente, a partir de kits comerciais, seguindo-se as recomendações do fabricante (LABTEST DIAGNÓSTICA, 2013). O teor (g/dL) de globulinas (GLOB) foi calculado pela diferença entre PST e ALB (SILVA et al., 2007). Também foram determinadas as concentrações séricas (g/dL) de imunoglobulinas G (IgG) utilizando-se kit comercial de ELISA, conforme manual técnico do fabricante (BETHYL LABORATORIES, 2013). Analisaram-se os dados obtidos pela prova estatística de Wilcoxon, para identificar diferenças significativas entre as médias das variáveis nos momentos analisados e pela prova de Mann-Whitney, a fim de se verificar diferenças significativas entre as médias dos grupos experimentais. Essas análises tiveram como referência 95% de confiança ($p < 0,05$).

No intuito de pesquisar anticorpos anti-LVPR, os testes de IDGA, ELISA e IB foram aplicados. Para tanto, produziu-se antígeno a partir de cultivos secundários de membrana sinovial caprina, inoculados com cepa padrão CAEV-Cork (PINHEIRO et al., 2006; PINHEIRO et al., 2010). No teste de IDGA, utilizou-se antígeno concentrado por ultrafiltração e tratado com éter etílico (PINHEIRO et al., 2010). Para o ELISA, o antígeno empregado foi obtido a partir de *pellet* de células tratado com dodecil sulfato de sódio (SDS), conforme metodologia descrita por Torres et al. (2009). Já na técnica de IB, foi utilizado antígeno produzido por ultracentrifugação em colchão de sacarose

(PINHEIRO et al., 2006; DANTAS et al., 2008). A padronização das técnicas e a determinação dos valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, concordância dos testes e índice *kappa* foram realizadas por Lima et al. (2013) e Rodrigues et al. (2014).

Os testes de IDGA foram conduzidos em placas de petri plásticas (90x15mm), contendo 13mL de gel de agarose a 1% em solução salina fosfatada (PBS). Após a perfeita polimerização, o gel foi perfurado com roseta metálica hexagonal, formando sete poços com capacidade para 25µL. O poço central recebeu antígeno e os poços periféricos foram preenchidos com soros a serem testados e soro padrão positivo, de forma intercalada. As placas foram acondicionadas em câmara úmida, a 25°C. Efetuaram-se leituras com 48 e 72 horas, sobre fonte de luz, com fundo escuro, observando-se formação de linha de precipitação (PINHEIRO et al., 2005; PINHEIRO et al., 2010). Considerou-se positivo o soro cuja linha de precipitação apresentou identidade com a linha formada pelo soro padrão e negativo aquele que não levou à formação de linha de precipitação ou a linha formada não apresentou identidade com a do soro padrão (ABREU et al., 1998).

Os testes de ELISA foram conduzidos baseando-se na metodologia descrita por Pinheiro et al. (2006), utilizando-se microplacas rígidas com 96 poços (*Nunc-Immuno Plate MaxiSorp Surface*), de alta capacidade de adsorção. A sensibilização foi realizada com 0,5µg de antígeno por poço e os soros a serem testados, bem como o soro padrão positivo e o padrão negativo foram diluídos 1:50 e distribuídos na placa em duplicata. Utilizou-se conjugado (anti-IgG caprino marcado com peroxidase - SIGMA®) na diluição 1:1500. Os resultados expressos em densidade óptica foram convertidos em percentual do resultado médio de duas repetições com soro padrão positivo (percentual de positividade – PP), variando de 0 a 100%. O ponto de corte de 25,35% foi estabelecido a partir de amostras negativas testadas por IDGA e IB (média dos PP mais três vezes o desvio padrão).

As provas de IB foram realizadas com base na técnica descrita por Pinheiro et al. (2011), sendo que as proteínas do antígeno separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), foram transferidas para a membrana de nitrocelulose (MN) passivamente (CRUZ et al., 2003). Após o bloqueio, a membrana foi cortada em tiras, para incubação com os soros, na diluição de 1:50. O conjugado (anti-IgG ovino

marcado com peroxidase-SIGMA[®]) foi aplicado na diluição de 1:15000. Consideraram-se como positivos os soros cujas tiras apresentaram reação para o polipeptídeo com peso molecular próximo a 28kDa, tendo-se como parâmetro a tira do soro controle positivo e o padrão de peso molecular de proteínas (OLIVEIRA et al., 2008; SARDI et al., 2012).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de PST, ALB, GLOB e IgG (g/dL), do nascimento aos 30 dias de idade, estão apresentados na Tabela 1. Em ambos os grupos, as menores médias de PST, GLOB e IgG foram observadas ao nascimento e as maiores médias foram constatadas em 24 horas de vida, com diferença significativa dos demais valores. A partir daí, houve decréscimo das concentrações. Quanto às dosagens de ALB, para o G1, não houve diferença estatística nos primeiros três momentos. A maior média foi obtida aos 30 dias de idade. Já para o G2, houve discreta diferença dos valores nos primeiros três momentos de coleta. As maiores médias foram obtidas aos 15 e 30 dias, não havendo diferença estatística entre estas.

Tabela 1 - Valores médios de proteína sérica total (PST), albumina (ALB), globulinas (GLOB) e imunoglobulinas G (IgG), em g/dL, de cordeiros submetidos à mamada artificial (G1) e natural (G2) de colostro.

Médias (g/dL)		Idade (em dias)				
		0	1	7	15	30
PST	G1	4,35±0,73 a* ^{C**}	8,95±4,70 aA	5,81±0,80 aB	5,69±0,52 aB	5,74±0,54 aB
	G2	4,72±0,38 aE	8,88±1,03 bA	6,82±0,54 bB	6,41±0,59 bC	5,97±0,88 aD
ALB	G1	2,30±0,23 aC	2,17±0,52 aC	2,30±0,17 aC	2,73±0,36 aB	2,91±0,35 aA
	G2	2,37±0,19 aC	2,25±0,22 aD	2,64±0,27 bB	2,92±0,34 aAB	3,04±0,27 aA
GLOB	G1	2,05±0,70 aC	6,78±4,25 aA	3,51±0,87 aB	2,95±0,65 aBC	2,84±0,60 aC
	G2	2,35±0,30 aE	6,63±1,14 aA	4,18±0,52 aB	3,49±0,45 aC	2,92±0,72 aD
IgG	G1	0,00±0,00 aE	1,30±0,37 aA	0,51±0,07 aB	0,43±0,12 aC	0,29±0,05 aD
	G2	0,03±0,03 bE	1,09±0,34 aA	0,62±0,14 aB	0,46±0,11 aC	0,21±0,07 bD

*Letras minúsculas iguais na mesma coluna, dentro de cada variável: as médias não apresentam diferenças significativas para os grupos G1 e G2, em cada momento observado, pela prova de Mann-Whitney, a 95% de confiança.

**Letras maiúsculas iguais na mesma linha: as médias não apresentam diferenças significativas dentro dos momentos observados, pela prova de Wilcoxon, a 95% de confiança.

A PST em cordeiros recém-nascidos sofre alterações significativas com o desenvolvimento etário. Ao nascimento, verifica-se a menor concentração, atingindo

valor máximo a partir de 24 horas de vida (SILVA et al., 2010). Essa diferença nas concentrações protéicas nas primeiras 24 horas deve-se, quase que exclusivamente, à absorção de imunoglobulinas colostrais (FEITOSA et al., 2001; SIMÕES et al., 2005; SILVA et al., 2007; YANAKA et al., 2012; ELOY et al., 2013).

Antes da ingestão de colostro, o proteinograma se caracteriza pelo predomínio de ALB sobre GLOB, esta última em concentração mínima. Após a ingestão, as frações ALB e alfa globulina mantêm-se relativamente estáveis, sendo que as betaglobulinas e gamaglobulinas apresentam aumento significativo (BORGES et al., 2001). No entanto, a partir das primeiras 24-72 horas, há decréscimo do valor de PST até os 30 dias de vida, para então ocorrer acréscimo progressivo aos 60 e 90 dias (SILVA et al., 2010). O ponto de concentração mínima até os 30 dias reflete a transição entre a fase de catabolismo das imunoglobulinas adquiridas e o início da produção endógena (PAULETTI et al., 2002; FÉRES et al., 2010).

A concentração sérica de IgG antes da ingestão do colostro foi inexpressiva ou mesmo indetectável. Por outro lado, valores máximos foram constatados às 24 horas, havendo, a partir daí, decréscimo progressivo, corroborando o que foi relatado por Silva et al. (2007), em cabritos que ingeriram colostro de cabras artificialmente. Estes autores verificaram concentração sérica média de IgG, às 24 horas de vida, de 0,749 g/dL, utilizando a técnica de eletroforese em SDS-PAGE e de 2,070 g/dL, quando aplicaram o método de imunodifusão radial, ressaltando o cuidado que se deve ter ao interpretar concentrações de imunoglobulinas obtidas por diferentes técnicas. Segundo os autores, a eletroforese em SDS-PAGE propicia o fracionamento mais acurado de proteínas, sendo mais específica na obtenção da fração IgG. Inclusive, Feitosa et al. (2001) observaram valores superestimados de concentrações de imunoglobulinas utilizando-se as provas de turbidimetria pelo sulfato de zinco e imunodifusão radial, justificando o ocorrido ao fato das amostras de soro possuírem grandes concentrações de IgG.

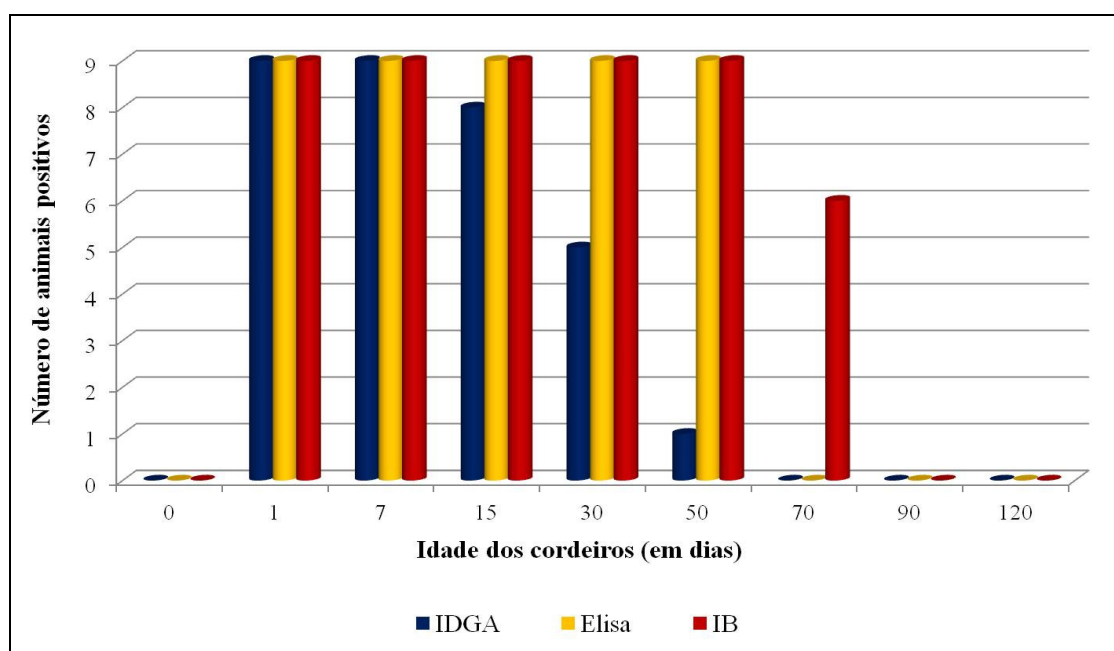
Estudos descreveram correlação positiva e altamente significativa entre os valores de proteína total e gamaglobulinas, em recém-nascidos, demonstrando que a determinação da PST é um método eficaz de avaliação indireta da aquisição de imunidade passiva, na ausência de desidratação (FEITOSA et al., 2001; PAULETTI et al., 2012; SIMÕES et al., 2005; YANAKA et al., 2012). Entretanto, existe discordância entre autores quanto à definição de um valor ideal de PST que confira uma adequada

imunidade. Em bezerros, Costa et al. (2007) consideraram a ocorrência de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) nos animais que após a ingestão do colostro, possuíam PST inferior a 5g/dL. Já em cordeiros, Costa et al. (2013) relataram FTIP quando os valores de PST foram menores ou iguais a 4,5g/dL, no período de 24 a 72 horas de vida.

Neste trabalho, o menor valor individual de PST observado no G1 foi de 5,92g/dL e no G2 foi de 7,58g/dL, às 24 horas de vida. Sendo assim, os dois tipos de manejo adotados foram eficientes para promover a adequada transferência de imunidade. Quando se comparou os resultados de PST entre os grupos (Tabela 1), observou-se diferenças significativas em 24 horas, sete e 15 dias de idade. Já ao nascimento e com 30 dias, os valores de PST foram estatisticamente semelhantes, assim como ocorreu para GLOB em todos os momentos observados. Quanto aos valores de ALB, só ocorreu diferença significativa entre os grupos aos sete dias de vida.

Para o G1, a imunidade passiva também pôde ser constatada a partir dos testes de imunodiagnóstico para LVPR, que demonstraram a aquisição de imunoglobulinas colostrais (Figura 1).

Figura 1 - Resultados dos testes de imunodifusão em gel de agarose (IDGA), ensaio imunoenzimático (ELISA) e *immunoblotting* (IB), do nascimento aos 120 dias de idade, de nove cordeiros que mamaram *pool* de colostro de cabras positivas para lentivírus de pequenos ruminantes (G1).



Antes da ingestão do *pool* de colostro de cabras positivas, os cordeiros estavam soronegativos nas provas de IDGA, ELISA e IB. Após 24 horas do nascimento, todos os animais foram reagentes nos três testes, permanecendo assim até os 50 dias de vida pelas técnicas de ELISA e IB. Resultados negativos começaram a ser observados, pela prova de IDGA, a partir dos 15 dias de idade e somente um dos nove cordeiros foi reagente aos 50 dias. Aos 70 dias, apenas o IB foi capaz de detectar anticorpos colostrais anti-LVPR e aos 90 e 120 dias, todos os cordeiros estavam soronegativos pelas três técnicas empregadas.

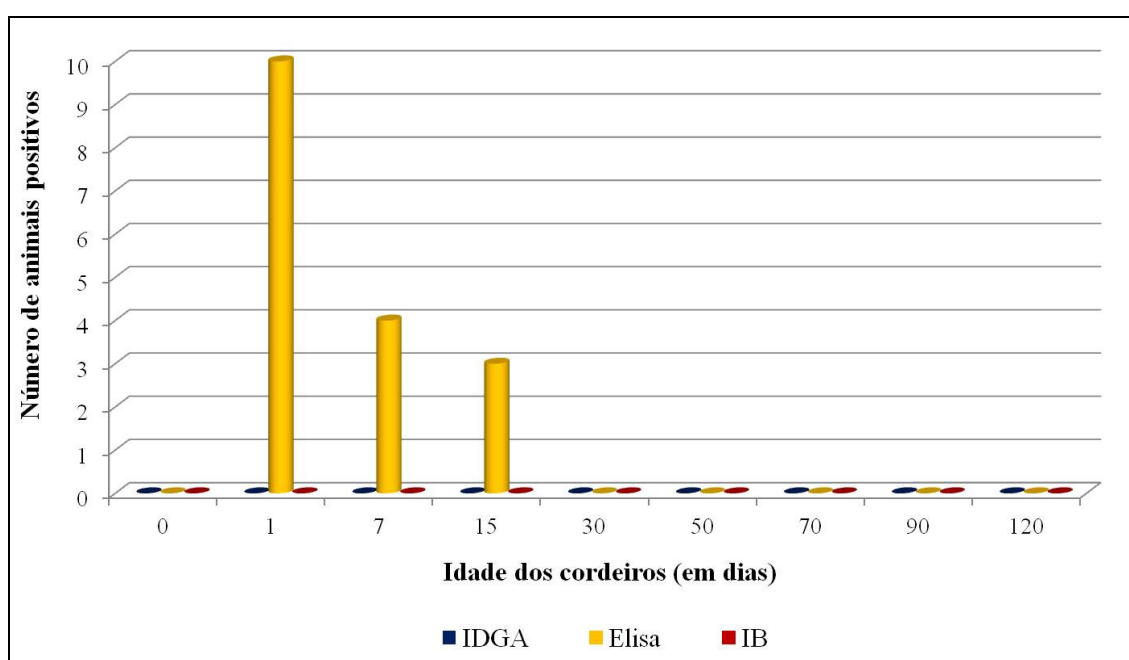
A ocorrência de resultados sorológicos negativos, inicialmente pela prova de IDGA, após o período de positividade, reflete a degradação das imunoglobulinas adquiridas passivamente (PAULETTI et al., 2002; HERRMANN-HOESING et al., 2007; FÉRES et al., 2010). Isto está de acordo com a meia-vida de uma a três semanas da IgG, a imunoglobulina predominante no colostro de ruminantes (CERVENAK e KAVSKOVICS, 2009; HURLEY e THEIL, 2011). Em cabritos, verificou-se a menor concentração de IgG colostrar aos 75 dias de vida (YANAKA et al., 2012). Logo, por conta do declínio na concentração das imunoglobulinas colostrais, somente os testes de ELISA e IB foram capazes de detectar anticorpos anti-LVPR por mais tempo, por serem mais sensíveis.

Em relação ao G2, constituído por cordeiros que mamaram colostro naturalmente de suas mães negativas, todos os animais apresentaram resultados negativos nos testes de IDGA e IB, do nascimento aos 120 dias de vida (Figura 2). Entretanto, soros reagentes foram constatados nas provas de ELISA às 24h, sete e 15 dias pós-nascimento. Curiosamente, nestes mesmos momentos, reações inespecíficas foram detectadas nos testes de IDGA, que apresentaram linhas sem identidade e nos testes de IB, que revelaram reações não relacionadas às proteínas dos LVPR. Por conta disso, julgou-se os resultados positivos no ELISA como falso-positivos, oriundos de reações inespecíficas, com alta densidade óptica e consequentemente, com percentuais de positividade acima do ponto de corte estabelecido.

Celer Jr. et al. (1998) ressaltaram que o antígeno produzido a partir da partícula viral completa, como o utilizado neste trabalho, aumenta a sensibilidade da prova, entretanto, proteínas não-virais constituintes do antígeno e oriundas do cultivo celular propiciam a ocorrência de resultados falso-positivos no ELISA. Ademais, deve-se

considerar que as imunoglobulinas colostrais refletem o histórico de resposta do sistema imunológico da fêmea à exposição a diversos antígenos ao longo de sua vida (HURLEY e THEIL, 2011). Logo, a ocorrência das reações inespecíficas relatadas justifica-se pela tamanha variedade de epitopos que podem ser reconhecidos pelos anticorpos adquiridos passivamente.

Figura 2 - Resultados dos testes de imunodifusão em gel de agarose (IDGA), ensaio imunoenzimático (ELISA) e *immunoblotting* (IB), do nascimento aos 120 dias de idade, de dez cordeiros que mamaram colostro naturalmente de suas mães negativas para lentivírus de pequenos ruminantes (G2).



CONCLUSÕES

A partir dos resultados expostos, concluiu-se que aos 90 e 120 dias de vida, anticorpos colostrais anti-LVPR não mais são detectados no soro de cordeiros. Logo, as técnicas de IDGA, Elisa e IB podem ser aplicadas após este período visando o diagnóstico. Ademais, frente às recentes pesquisas acerca da heterogeneidade dos LVPR e considerando que os anticorpos colostrais não previnem a infecção, outras análises serão necessárias para avaliar a ocorrência de transmissão interespécies, bem como a soroconversão desses animais e manifestação da doença.

AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb) pelo fomento ao projeto e concessão de bolsa de doutorado, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento à pesquisa e a Embrapa Caprinos e Ovinos pelo apoio à execução do experimento.

REFERÊNCIAS

- ABREU, S.R.O.; CASTRO, R.S.; NASCIMENTO, S.A.; SOUZA, M.G. Produção de antígeno nucleoprotéico do vírus da artrite-encefalite caprina e comparação com o do vírus Maedi-Visna para utilização em teste de imunodifusão em ágar gel. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.18, n.2, p.57-60, 1998.
- ÁLVAREZ, V.; ARRANZ, J.; DALTABUIT-TEST, M.; LEGINAGOIKOA, I.; JUSTE, R.A.; AMORENA, B.; DE ANDRÉS, D.; LUJÁN, L.L.; BADIOLA, J.J.; BERRIATUA, E. Relative contribution of colostrum from Maedi-Visna virus (MVV) infected ewes to MVV-seroprevalence in lambs. **Research in Veterinary Science**, v.78, n.3, p.237-243, 2005.
- ÁLVAREZ, V.; DALTABUIT-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 colostrum-associated Maedi-Visna virus (MVV) infection and relationship with ELISA-antibody status in lambs. **Research in Veterinary Science**, v.80, n.2, p.226-234, 2006.
- BETHYL LABORATORIES. **Goat IgG ELISA Quantitation Set**. Montgomery, Alabama, USA, 12p. Disponível em: <<http://www.bethyl.com/product/E50-104>>. Acesso em: 19 dez 2013.
- BORGES, A.S.; FEITOSA, F.L.F.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H.; MENDES, L.C.N. Influência da forma de administração e da quantidade fornecida de colostro sobre a concentração de proteína total e de suas frações eletroforéticas no soro sanguíneo de

bezerros da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.5, p.629-634, 2001.

CALLADO, A.K.C.; CASTRO, R.S.; TEIXEIRA, M.F.S. Lentivírus de pequenos ruminantes (CAEV e Maedi-Visna): Revisão e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.21, n.3, p.87-97, 2001.

CELER JR., V.; CELER, V.; NEMCOVÁ, H.; ZANONI, R.G.; PETERHANS, E. Serologic diagnosis of ovine lentiviruses by whole virus ELISA and AGID test. **Journal of Veterinary Medicine**, v.45, n.3, p.183-188, 1998.

CERVENAK, J.; KACSKOVICS, I. The neonatal Fc receptor plays a crucial role in the metabolism of IgG in livestock animals. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.128, n.1-3, p.171-177, 2009.

COSTA, J.N.; PEIXOTO, A.P.C.; KOHAYAGAWA, A.; SOUZA, T.S. Proteinograma sérico de bezerras da raça Holandesa do nascimento aos 150 dias de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.4, p.267-275, 2007.

COSTA, J.N.; SILVA, D.F.M.; LIMA, C.C.V.; SOUZA, T.S.; ARAÚJO, A.L.; COSTA NETO, A.O.; ALMEIDA, M.A.O. Falha da transferência de imunidade passiva em cordeiros mestiços (Santa Inês X Dorper) e estudo do proteinograma do nascimento até o desmame. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, n.2, p.114-120, 2013.

CRUZ, E.T.; GONZÁLEZ, R.H.; RODRÍGUEZ, A.M.; ÁLVAREZ, H.R.; ORTEGA, M.E.T.; SCHMID, R.K.; SETIÉN, A.A. Detección de anticuerpos contra artritis encefalitis caprina (AEC) mediante inmunoelectrotransferencia. **Veterinária México**, v.34, n.2, p.119-127, 2003.

DANTAS, T.V.M.; ARAÚJO, S.A.C.; PINHEIRO, R.R.; ARAGÃO, M.A.C.; SILVA, J.B.A.; RICARTE, A.R.F.; RIBEIRO, A.L.; TEIXEIRA, M.F.S. Desenvolvimento e padronização de um ELISA indireto para diagnóstico de maedi visna em ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.1, p.181-187, 2008.

DAWSON, M. Caprine arthritis-encephalitis. **In Practice**, v.9, n.1, p.8-11, 1987.

ELOY, A.M.X.; ANDRADE, M.L.R.; PINHEIRO, R.R.; SILVA, N.M.M.; BRITO, R.L.L.; SANTIAGO, L.B.; LOBO, R.N.B.; FURTADO, J.R. Estudo da dinâmica da

absorção proteica do colostro em crias Moxotó e Saanen no Ceará. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, n.4, p.351-357, 2013.

FEITOSA, F.L.F. Importância da transferência da imunidade passiva para a sobrevivência de bezerros neonatos. **Revista de Educação Continuada CRMV-SP**, v.2, n.3, p.17-22, 1999.

FEITOSA, F.L.F.; BIRGEL, E.H.; MIRANDOLA, R.M.S.; PERRI, S.H.V. Diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva em bezerros através da determinação de proteína total e de suas frações eletroforéticas, imunoglobulinas G e M e da atividade da gama glutamiltransferase no soro sanguíneo. **Ciência Rural**, v.31, n.2, p.251-255, 2001.

FÉRES, F.C.; LOMBARDI, A.L.; BARBOSA, T.S.; MENDES, L.C.N.; PEIRÓ, J.R.; CADIOLI, F.A.; PERRI, S.H.V.; FEITOSA, F.L.F. Avaliação da transferência de imunidade passiva em cordeiros com até 30 dias de idade. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.47, n.3, p.231-236, 2010.

GENDELMAN, H.E.; NARAYAN, O.; KENNEDY-STOSKOPF, S.; KENNEDY, P.G.E.; GHOTBI, Z.; CLEMENTS, J.E.; STANLEY, J.; PEZESHKPOUR, G. Tropism of sheep lentiviruses for monocytes: susceptibility to infection and virus gene expression increase during maturation of monocytes to macrophages. **Journal of Virology**, v.58, n.1, p.67-74, 1986.

HERRMANN-HOESING, L.M.; PALMER, G.H.; KNOWLES, D.P. Evidence of proviral clearance following postpartum transmission of an ovine lentivírus. **Virology**, v.362, n.1, p.226-234, 2007.

HURLEY, W.L.; THEIL, P.K. Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. **Nutrients**, v.3, n.4, p.442-474, 2011.

LABTEST DIAGNÓSTICA. **Guia Técnico – Bioquímica**. Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil. Disponível em: <<http://www.labtest.com.br/publicacoes/publicacoeslabtest>>. Acesso em: 19 dez 2013.

LARA, M.C.C.S.H.; BIRGEL JÚNIOR, E.H.; FERNANDES, M.A.; BIRGEL, E.H. Infecção experimental do vírus da artrite-encefalite dos caprinos em cabritos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, n.1, p.51-54, 2003.

LIMA, C.C.V.; COSTA, J.N.; SOUZA, T.S.; MARTINEZ, P.M.; COSTA NETO, A.O.; AZEVEDO, D.A.A.; PINHEIRO, R.R.; BRITO, R.L.L. Imunodiagnóstico para a artrite-encefalite caprina em rebanhos do semiárido baiano, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, n.4, p.358-364, 2013.

MODOLO, J.R.; STACHISSINI, A.V.M.; PADOVANI, C.R.; ARAÚJO JÚNIOR, J.P.; CASTRO, R.S.; RAVAZZOLO, A.P.; LEITE, B.L.S. PCR associated with agar gel immunodiffusion assay improve caprine arthritis-encephalitis (CAEV) control. **Small Ruminant Research**, v.81, n.1, p.18-20, 2009.

NÓBREGA JÚNIOR, J.E.; RIET-CORREA, F.; NÓBREGA, R.S.; MEDEIROS, J.M.; VASCONCELOS, J.S.; SIMÕES, S.V.; TABOSA, I.M. Mortalidade perinatal de cordeiros no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.3, p.171-178, 2005.

OLIVEIRA, M.M.M.; MELO, M.A.; ANDRADE, P.P.; GOMES, S.M.; CAMPOS, A.C.; NASCIMENTO, S.A.; CASTRO, R.S. Western Blot para o diagnóstico das infecções pelos lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos: um método simples para a produção de antígeno. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, n.3, p.263-270, 2008.

PASICK, J. Maedi-Visna Virus and Caprine Arthritis-Encephalitis Virus: Distinct species or quasispecies and its implications for laboratory diagnosis. **Canadian Journal of Veterinary Research**, n.62, n.4, p. 241-244, 1998.

PAULETTI, P.; MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; BESSI, R. Avaliação de níveis séricos de imunoglobulina, proteína e o desempenho de bezerras da raça Holandesa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.1, p.89-94, 2002.

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; YORINORI, E.H.; ANDRIOLI, A. Comparação de três técnicas de produção do antígeno do lentivírus caprino utilizado no teste de imunodifusão em gel de ágar. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.42, n.6, p.453-458, 2005.

PINHEIRO, R.R.; OLOTEGUI, C.D.C.; GOUVEIA, A.M.G.; ARAÚJO, S.C.; ANDRIOLI, A. Desenvolvimento de dot-blot para detecção de anticorpos para o vírus

da artrite-encefalite caprina em caprinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.101, n.557-558, p.51-56, 2006.

PINHEIRO, R.R.; ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G.; ARAGÃO, M.A.C.; MARTINEZ, P.M. Avaliação de antígenos para o diagnóstico de lentivírus em rebanho caprino sob programa de controle. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.1, p.133-137, 2010.

PINHEIRO, R.R.; BRITO, R.L.L.; RODRIGUES, A.S.; DIAS, R.P.; ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G. Protocolo de immunoblotting para diagnóstico da artrite-encefalite caprina. **Comunicado Técnico 122**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2011. 4p.

PREZIUSO, S.; RENZONI, G.; ALLEN, T. E.; TACCINI, E.; ROSSI, G.; DEMARTINI, J. C.; BRACA, G. Colostral transmission of Maedi-visna virus: sites of viral entry in lambs born from experimentally infected ewes. **Veterinary Microbiology**, v. 104, n.3-4, p. 157-164, 2004.

RODRIGUES, A.S.; BRITO, R.L.L.; PINHEIRO, R.R.; DIAS, R.P.; ALVES, S.M.; SOUZA, T.S.; SOUZA, K.C.; AZEVEDO, D.A.A.; ANDRIOLI, A.; MAGALHÃES, D.C.T.; TEIXEIRA, M.F.S. Padronização do ELISA indireto e Western Blot para o diagnóstico da artrite-encefalite caprina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.2, p.417-424, 2014.

SARDI, S.I.; TORRES, J.A.; BRANDÃO, C.F.L.; TIGRE, D.M.; CAMPOS, G.S. Early detection of goats infected with lentivirus small ruminant virus by ELISA assay. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.11, n.1, p.35-40, 2012.

SILVA, D.F.M.; COSTA, J.N.; ARAÚJO, A.L.; COSTA NETO, A.O.; ALMEIDA, M.A.O.; CARVALHO, V.S. Proteinograma sérico de cordeiros mestiços (Santa Inês X Dorper) do nascimento até o desmame: efeito do desenvolvimento etário e do monitoramento da ingestão do colostro. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.4, p.794-805, 2010.

SILVA, S.L.; FAGLIARI, J.J.; BAROZA, P.F.J.; CESCO, F.T.R.S.; JORGE, R.L.N. Avaliação da imunidade passiva em caprinos recém-nascidos alimentados com colostro de cabras ou colostro de vacas. **ARS Veterinária**, v.23, n.2, p.81-88, 2007.

SIMÕES, S.V.D.; COSTA, R.G.; SOUZA, P.M.; MEDEIROS, A.N.; VILAR, A.L.T. Imunidade passiva, morbidade neonatal e desempenho de cabritos em diferentes manejos de colostro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.4, p.219-224, 2005.

SOUZA, T.S.; PINHEIRO, R.R.; LIMA, C.C.V.; COSTA, J.N. Transmissão interespécie dos lentivírus de pequenos ruminantes: revisão e desafios. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n.1, p.23-34, 2012.

STRAUB, O.C. Maedi-Visna virus infection in sheep. History and present knowledge. **Comparative Immunology Microbiology & Infectious Diseases**, v.27, n.1, p.1-5, 2004.

TORRES, J.A.; CAMPOS, G.S.; FREITAS, M.M.; BRANDÃO, C.F.L.; SARDI, S.I. Produção de antígeno viral para o diagnóstico da artrite-encefalite caprina utilizando um teste imunoenzimático (ELISA). **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.8, n.2, p.107-114, 2009.

YANAKA, R.; CAMARGO, D.G.; BOVINO, F.; SANTOS, W.A.; DÓCUSSE, M.R.; CAVASSANO, B.S.; FEITOSA, F.L.F. Período de absorção intestinal de macromoléculas em cabritos recém-nascidos após a ingestão de colostro bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.8, p.794-802, 2012.

CAPÍTULO 2

Transmissão interespecífica do lentivírus de pequenos ruminantes de caprinos para ovinos

Transmissão interespecífica do lentivírus de pequenos ruminantes de caprinos para ovinos

RESUMO

Com o objetivo de avaliar a transmissão do lentivírus de caprinos para ovinos, este estudo foi conduzido, utilizando-se quatro grupos experimentais. O primeiro (grupo colostro) foi formado por nove cordeiros que receberam colostro de cabras positivas para lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR). O segundo (grupo leite) foi estabelecido por nove cordeiros que receberam leite dessas cabras. O terceiro foi um grupo controle, constituído por cordeiros que mamaram colostro e leite de suas mães negativas. Já o quarto grupo (grupo contato) foi formado por oito ovinos adultos, confinados com duas cabras naturalmente infectadas. Os grupos foram monitorados por *immunoblotting* (IB), ensaio imunoenzimático (ELISA), imunodifusão em gel de agarose (IDGA) e reação em cadeia da polimerase do tipo *nested* (nPCR). Todos os cordeiros que mamaram colostro e leite de cabras infectadas e seis ovinos do grupo contato apresentaram resultados positivos na nPCR, apesar de soroconversão somente ter sido detectada em três dos animais expostos, não havendo manifestação clínica de lentivirose, em 720 dias de observação. Análises filogenéticas com sequência do gene *gag* demonstraram estreita relação entre as sequências virais obtidas dos animais infectados e sequência do protótipo lentiviral caprino CAEV-Cork. Sendo assim, concluiu-se que os lentivírus podem ser transmitidos de caprinos para ovinos; entretanto, o grau de adaptação da cepa viral à espécie hospedeira provavelmente interfere na persistência da infecção, taxa de soroconversão e manifestação da doença.

Palavras-chave: cordeiros, infecção cruzada, LVPR

Interspecific transmission of small ruminant lentiviruses from goats to sheep

ABSTRACT

In order to evaluate the transmission of caprine lentivirus to sheep, this study was conducted, using four experimental groups. The first (colostrum group) was formed by nine lambs receiving colostrum from goats positive for small ruminant lentiviruses (SRLV). The second (milk group) was established by nine lambs that received milk of these goats. The third was a control group, consisting of lambs that suckled colostrum and milk of negative mothers. The fourth group (contact group) was formed by eight adult sheep, confined with two naturally infected goats. The groups were monitored by immunoblotting (IB), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), agar gel immunodiffusion (AGID) and nested polymerase chain reaction (nPCR). All lambs that suckled colostrum and milk of infected goats and six sheep of the contact group showed positive results in the nPCR, although seroconversion was detected only in three of the exposed animals, with no clinical lentiviruses manifestation, in 720 days of observation. Phylogenetic analysis with gag sequence showed a close relationship between viral sequences obtained from infected animals and the prototype CAEV-Cork. Thus, it was concluded that SRLV can be transmitted from goats to sheep, however, the degree of adaptation of the virus strain to the host species probably interferes with the infection persistence, seroconversion rate and disease manifestation.

Keywords: cross-infection, lambs, SRLV

INTRODUÇÃO

Os lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR) são retrovírus com tropismo para células do sistema monocítico fagocitário e causam a artrite-encefalite em caprinos (CAE) e maedi-visna (MV) em ovinos (LEROUX e MORNEX, 2008; BLACKLAWS, 2012; SOUZA et al., 2012). Pertencem também ao gênero *Lentivirus* o vírus da imunodeficiência humana (HIV), símia (SIV), felina (FIV), bovina (BIV) e o vírus da anemia infecciosa equina (EIAV) (BLACKLAWS e HARKISS, 2010; LEROUX et al., 2010).

A CAE e a MV são enfermidades progressivas e crônicas, com diferentes formas clínicas, mais evidentes em rebanhos com moderada a elevada prevalência (PETERHANS et al., 2004). Em caprinos, a forma articular é mais frequente, com ocorrência de claudicação e aumento do diâmetro das articulações (ADAMS e CRAWFORD, 1980; LARA et al., 2005). A forma respiratória é mais comum em ovinos, que apresentam dispneia e intolerância a exercícios (DAWSON et al., 1987; ANGELOPOULOU et al., 2005). Além disso, os animais podem apresentar emagrecimento progressivo, mastite indurativa (GREGORY et al., 2009a) e encefalomielite pode ocorrer em cabritos e cordeiros, que manifestam sinais neurológicos como paresia e paralisia de membros posteriores (ADAMS e CRAWFORD, 1980; CRAWFORD e ADAMS, 1981; BENAVIDES et al., 2007).

Durante anos, lentivírus isolados em ovinos foram denominados de maedi-visna vírus (MVV) e em caprinos, vírus da artrite-encefalite caprina (CAEV), sendo considerados como específicos a cada espécie. Entretanto, análises filogenéticas e constatações de infecção cruzada demonstraram que existem diferentes genótipos e subtipos lentivirais, capazes de infectar tanto caprinos quanto ovinos (LEROUX et al., 1997; ZANONI, 1998; SHAH et al. 2004a; LEROUX et al., 2010; SOUZA et al., 2012).

Inferências sobre a heterogeneidade dos LVPR e a ocorrência da transmissão interespecíes já foram feitas em análises filogenéticas conduzidas no Brasil (CASTRO et al., 1999), nos Estados Unidos (ADEDEJI et al., 2013), Canadá (FRAS et al., 2013), França (LEROUX et al., 1995; GERMAIN e VALAS, 2006), Itália (GREGO et al., 2002; PISONI et al., 2005; GREGO et al., 2007; REINA et al., 2009; PISONI et al., 2010; REINA et al., 2010; BERTOLOTI et al., 2011; GIAMMARIOLI et al., 2011),

Irlanda (ROLLAND et al., 2002), Suíça (SHAH et al., 2004b; DEUBELBEISS et al., 2014), Espanha (REINA et al., 2006; GLARIA et al., 2009; PÉREZ et al., 2014), Grécia (ANGELOPOULOU et al., 2005), Noruega (GJERSET et al., 2007, 2009), Finlândia (LAAMANEN et al., 2007), Polônia (OLECH et al., 2012) e Eslovênia (KUHAR et al., 2013), não havendo, entretanto, a determinação de como ocorreu a infecção cruzada, ainda que alguns autores tenham suspeitado de transmissão horizontal (SHAH et al., 2004b; PISONI et al., 2005), ingestão de leite (PÉREZ et al., 2014) e fômites (FRAS et al., 2013).

Questões acerca da circulação e adaptação dos LVPR em seus hospedeiros ainda precisam ser respondidas, visando à implantação de programas de prevenção e controle, que devem considerar a possibilidade de transmissão interespecies (GJERSET et al., 2007, 2009), principalmente tratando-se de criações consorciadas, muito comuns no nordeste brasileiro (PINHEIRO et al., 2004; MARTINEZ et al., 2010). Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a transmissão do lentivírus de caprinos para ovinos, a partir de diferentes condições de exposição, aplicando-se métodos de diagnóstico variados para constatar a ocorrência de infecção.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos e Ovinos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Caprinos e Ovinos), em Sobral, estado do Ceará, Brasil, com aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Vale do Acaraú (CEUA/UVA), sob o número 001.12.

Objetivando-se avaliar a transmissão interespecies do vírus a partir de colostro e leite, três grupos experimentais foram constituídos por cordeiros machos e fêmeas, mestiços de raças localmente adaptadas, predominando Santa Inês e Morada Nova, filhos de matrizes e reprodutores de rebanho ovino livre de LVPR, monitorado por imunodifusão em gel de agarose (IDGA), ensaio imunoenzimático (ELISA), *immunoblotting* (IB) e reação em cadeia da polimerase do tipo *nested* (nPCR), durante dois anos, a cada quatro meses.

O primeiro grupo (grupo colostro) foi estabelecido por nove cordeiros submetidos à mamada artificial exclusiva de *pool* de colostro de cabras positivas para LVPR, durante as primeiras 24 horas de vida. A quantidade de colostro fornecida foi de aproximadamente 11% do peso vivo nas primeiras oito horas pós-parto, visando à adequada transferência de imunidade passiva (NÓBREGA JÚNIOR et al., 2005; SIMÕES et al., 2005; YANAKA et al., 2012). Mamadas adicionais ainda foram oferecidas até 24 horas após o nascimento, quando então os animais começaram a mamar diretamente nas suas mães. Durante esse período de 24 horas após o parto, as ovelhas tiveram o úbere ordenhado e os tetos isolados com esparadrapo para impedir a mamada natural.

O segundo grupo (grupo leite) foi formado por nove cordeiros submetidos à mamada artificial de *pool* de leite de cabras positivas, durante 15 dias, a partir da segunda semana de vida. Os animais permaneceram com suas mães desde o nascimento, mamando colostro e leite naturalmente e durante o período de aleitamento artificial, eram apartados pela manhã para o fornecimento *ad libitum* de forma individual, para então retornarem à baia das ovelhas. O terceiro grupo foi o controle, constituído por dez cordeiros, que mamaram colostro e leite naturalmente em suas mães negativas.

O colostro e o leite fornecidos aos animais dos dois primeiros grupos experimentais foram oriundos de cabras naturalmente infectadas por LVPR, pertencentes às raças Saanen e Anglo Nubiana, testadas por IB, ELISA, IDGA e nPCR, mantidas isoladas em sistema leiteiro de criação semi-intensiva. Tanto o colostro quanto o leite foram armazenados em garrafas plásticas, acondicionadas a -20°C durante sete meses, até o nascimento dos cordeiros. Aos 90 dias de vida, houve o desmame dos animais e após os 330 dias de experimento, os machos foram retirados dos grupos por escassez de volumoso devido à estiagem prolongada.

Com a finalidade de analisar a transmissão horizontal do vírus de caprinos para ovinos, um quarto grupo (grupo contato) foi estabelecido por oito ovelhas adultas, oriundas do mesmo rebanho ovino livre de LVPR, relatado anteriormente. Estes animais foram confinados com duas cabras naturalmente infectadas, positivas nos testes de IDGA, ELISA, IB e nPCR, apresentando artrite. Os grupos experimentais (colostro, leite, controle e contato) permaneceram em baias isoladas uma das outras (Figura 1).

Figura 1 - Quatro grupos experimentais, em baias isoladas, sob sistema de confinamento, estabelecidos para a avaliação da transmissão interespécies de lentivírus de caprinos para ovinos.



Fonte: arquivo pessoal (2011 a 2013).

Colheitas de sangue para obtenção de soro e sangue total foram realizadas antes do início do experimento, com 24 horas e sete, 15, 30, 50, 70, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, 390, 480, 520, 570, 630 e 720 dias. Para o grupo leite, não houve colheita às 24 horas e para o grupo contato, as quatro primeiras coletas foram feitas antes do experimento e aos 30, 60 e 90 dias.

Amostras de leucócitos do sangue periférico foram obtidas a partir do tratamento do sangue total com solução de cloreto de amônio a 0,84% (FEITOSA et al., 2011). Em cada momento, foram colhidos 10mL de sangue com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), exceto para os cordeiros antes dos 30 dias de vida, quando coletou-se 5mL de sangue. O DNA foi extraído dos leucócitos, utilizando-se protocolo de Grimberg et al. (1989).

A técnica de nPCR foi executada seguindo-se o método de Barlough et al. (1994) modificada por Andrioli et al. (2006). A reação consistiu de um volume total de 50µL, contendo tampão (10mM tris-HCl, 50mM KCl e 1,5mM MgCl₂), 100µM de cada dNTP, 20pmol de cada oligonucleotídeo iniciador; 2U de Taq DNA polimerase; 3µL de amostra na primeira etapa e 1µL do produto desta na segunda etapa, sendo o volume final completado com água estéril. Em paralelo com as amostras testadas, utilizou-se controle positivo (amostra positiva) e um controle negativo (água estéril).

Na primeira etapa de amplificação, foi aplicado um par de oligonucleotídeos iniciadores externos, determinados a partir da região *gag* da cepa padrão CAEV-Cork (SALTARELLI et al., 1990), sendo os iniciadores P₁ (5'-CAAGCAGCAGGAGGGAG AAGCTG-3') e P₂ (5'-TCCTACCCCCATAATTTGATCCAC-3') descritos por Barlough et al. (1994), usados para amplificação de um fragmento-alvo de 297pb. Em seguida, foram utilizados os oligonucleotídeos iniciadores internos P₃ (5'-GTTCCAGC AACTGCAAACAGTAGCAATG-3') e P₄ (5'-ACCTTTCTGCTTCTTCATTTAATTT CCC-3') para a segunda amplificação, a fim de se obter um fragmento-alvo final de 187pb (RIMSTAD et al., 1993).

As reações de amplificação foram realizadas em termociclador, com ciclo inicial para desnaturação a 94°C por cinco minutos; 35 ciclos de 94°C por um minuto, anelamento a 56°C por um minuto e extensão a 72°C por 45 segundos; extensão final a 72°C por sete minutos e término a 4°C. As amostras testadas, bem como o controle positivo e negativo, além do marcador de pares de bases (100pb), foram submetidos à

eletroforese em gel de agarose a 2% em TBE (tris, borato e EDTA), corado com brometo de etídio (0,5µg/mL). A visualização dos fragmentos amplificados de DNA foi feita em transiluminador de luz ultravioleta (ANDRIOLI et al., 2006).

De cada grupo experimental, foram selecionadas duas amostras positivas, cujos produtos de amplificação foram sequenciados em plataforma Applied Biosystems® 3500 Genetic Analyzer. As sequências obtidas foram alinhadas utilizando-se o algoritmo Clustal W (THOMPSON et al., 1994), a partir do programa BioEdit Sequence Alignment Editor® (HALL, 1999). Com o auxílio do programa MEGA 5 (TAMURA et al., 2011), foram realizadas análises filogenéticas, pelo método da máxima verossimilhança, baseando-se no modelo de substituição de Kimura 2-parâmetros (KIMURA, 1980), definido após o teste de razão de verossimilhança. A topologia de árvore filogenética inicial para a busca heurística foi obtida pela aplicação do método de *neighbor-joining* a uma matriz de distâncias entre pares estimadas pelo modelo de *maximum composite likelihood* (TAMURA et al., 2004). O teste de filogenia de *bootstrap* foi aplicado com 1000 réplicas e obteve-se a árvore desenhada em escala, com comprimentos dos ramos medidos no número de substituições por sítio, com valor de corte de 50% (TAMURA et al., 2011).

No intuito de pesquisar anticorpos anti-LVPR, testes de IDGA, ELISA e IB foram utilizados. Para tanto, produziu-se antígeno a partir de cultivos secundários de membrana sinovial caprina, inoculados com cepa padrão CAEV-Cork (PINHEIRO et al., 2006; PINHEIRO et al., 2010). No teste de IDGA, utilizou-se antígeno concentrado por ultrafiltração e tratado com éter etílico (PINHEIRO et al., 2010). Para o ELISA, o antígeno empregado foi obtido a partir de *pellet* de células tratado com dodecil sulfato de sódio (SDS), conforme metodologia descrita por Torres et al. (2009). Já na técnica de IB, foi utilizado antígeno produzido por ultracentrifugação em colchão de sacarose (PINHEIRO et al., 2006; DANTAS et al., 2008). A padronização das técnicas e a determinação dos valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, concordância dos testes e índice *kappa* foram realizadas por Lima et al. (2013) e Rodrigues et al. (2014).

Os testes de IDGA foram conduzidos em placas de petri plásticas (90x15mm), contendo 13mL de gel de agarose a 1% em solução salina fosfatada (PBS). Após a perfeita polimerização, o gel foi perfurado com roseta metálica hexagonal, formando

sete poços com capacidade para 25µL. O poço central recebeu antígeno e os poços periféricos foram preenchidos com soros a serem testados e soro padrão positivo (oriundo de animal infectado), de forma intercalada. As placas foram acondicionadas em câmara úmida, a 25°C. Efetuaram-se leituras com 48 e 72 horas, sobre fonte de luz indireta, com fundo escuro, observando-se formação de linha de precipitação entre o soro teste e o antígeno (PINHEIRO et al., 2005; PINHEIRO et al., 2010).

Os testes de ELISA foram conduzidos baseando-se na metodologia descrita por Pinheiro et al. (2006), utilizando-se microplacas rígidas com 96 poços (*Nunc-Immuno Plate Maxi-Sorp Surface*), de alta capacidade de adsorção. A sensibilização foi realizada com 0,5µg de antígeno por poço e os soros a serem testados, bem como o soro padrão positivo e o padrão negativo foram diluídos 1:50 e distribuídos na placa em duplicata. Utilizou-se conjugado (anti-IgG caprino marcado com peroxidase - SIGMA®) na diluição 1:1500. Os resultados expressos em densidade óptica foram convertidos em percentual do resultado médio de duas repetições com soro padrão positivo (percentual de positividade – PP), variando de 0 a 100%. O ponto de corte de 25,35% foi estabelecido a partir de amostras negativas testadas por IDGA e IB (média dos PP mais três vezes o desvio padrão).

As provas de IB foram realizadas conforme técnica descrita por Pinheiro et al. (2011), havendo modificações. As proteínas do antígeno, separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), foram transferidas para a membrana de nitrocelulose passivamente (CRUZ et al., 2003). Após o bloqueio, a membrana foi cortada em tiras, para incubação com os soros, na diluição de 1:50. O conjugado (anti-IgG ovino marcado com peroxidase - SIGMA®) foi aplicado na diluição de 1:15000. Consideraram-se como positivos os soros cujas tiras apresentaram reação para o polipeptídeo com peso molecular próximo a 28kDa, tendo-se como parâmetro a tira do soro controle positivo e o padrão de peso molecular de proteínas (OLIVEIRA et al., 2008; SARDI et al., 2012).

RESULTADOS

Todos os animais do grupo controle apresentaram resultados negativos na nPCR, do nascimento aos 720 dias de vida. Por outro lado, positividade significativa ($p < 0,05$)

foi observada em animais expostos ao LVPR, quando comparados aos não expostos. (Tabela 1).

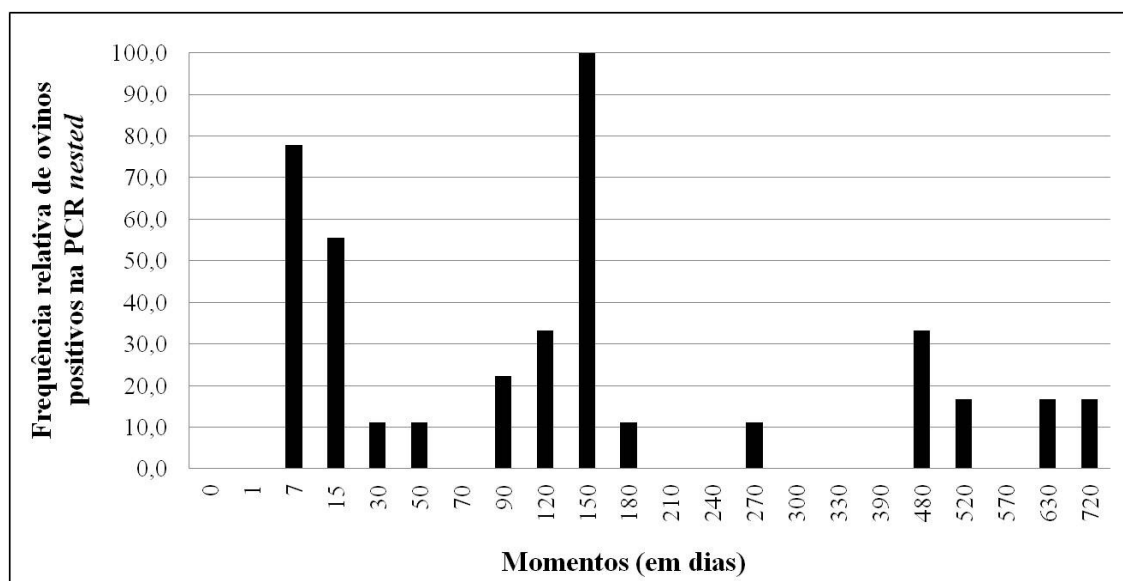
Tabela 1 - Número de resultados positivos e negativos obtidos nos testes de PCR *nested* para lentivírus de pequenos ruminantes, em diferentes grupos experimentais, do momento inicial até 720 dias de experimento.

Grupo	Número de resultados até 720 dias de experimento		
	Positivos	Negativos	Total de testes
Colostro	35 ^{a*}	145 ^b	180
Leite	24 ^{ab}	153 ^b	177
Contato	15 ^b	121 ^b	136
Controle	0 ^c	190 ^a	190
Total	74	609	683

*Letras diferentes na mesma coluna indicam valores diferentes maiores ou menores significativos pelo teste t para proporções(teste unilateral e $p < 0,05$).

Os animais do grupo colostro apresentaram pelo menos dois resultados positivos na nPCR. Sete dos nove (77,78%) animais foram positivos já no sétimo dia de vida e os outros dois animais restantes (22,22%) tiveram o primeiro resultado positivo no 15º dia. Houve intermitência entre testes positivos e negativos, em momentos diferentes, ao longo do experimento. Dos nove animais do grupo colostro, 22,22% (2/9) apresentaram-se como positivos na nPCR duas vezes; 33,33% (3/9), três vezes; 33,33% (3/9), quatro vezes e 11,11% (1/9), dez vezes (Figura 2).

Figura 2 - Resultados da PCR *nested* para lentivírus de pequenos ruminantes, em amostras de sangue de nove cordeiros que mamaram, nas primeiras 24 horas de vida, colostro de cabras infectadas.



O volume médio de ingestão de colostro positivo para LVPR, por cordeiro, nas primeiras 24 horas de vida, foi de 537,78mL (414,61 – 660,95mL; IC: 95%), representando 19,36% do peso médio ao nascimento de 2.777,78g (2.425,47 – 3.130,08g; IC: 95%). Não foi possível demonstrar relação significativa ($p>0,05$) entre a quantidade de colostro ingerida e o número de vezes em que os animais obtiveram resultados positivos na nPCR, utilizando-se o coeficiente de correlação de Spearman (Tabela 2).

Tabela 2 - Relação entre a quantidade de colostro ingerido por cordeiro e o número de resultados positivos na PCR *nested* para lentivírus de pequenos ruminantes, durante 720 dias de experimento.

Animais	Volume ingerido de colostro (mL)	Nº de resultados positivos
1	600	2
2	330	3
4	530	3
6	420	3
7	530	4
8	345	2
9	795	4
10	740	4
11	550	10
Média	537,78	3,89

Coeficiente de Spearman = 0,470 ($p>0,05$).

Para o grupo leite, os primeiros resultados positivos para cada animal foram observados no intervalo entre 7 e 150 dias após a primeira ingestão do *pool* de leite de cabras positivas. Todos os nove animais do grupo leite apresentaram pelo menos um resultado positivo na nPCR, havendo também intermitência entre positividade e negatividade. Dos nove animais, 11,11% (1/9) apresentaram-se como positivos uma vez; 44,44% (4/9), duas vezes; 22,22% (2/9), três vezes; 11,11% (1/9), quatro vezes e 11,11% (1/9), cinco vezes (Figura 3).

O volume médio de ingestão de leite positivo para LVPR, por cordeiro, foi de 1.532,78mL (1.021,31 – 2.044,25mL; IC: 95%), oferecido *ad libitum*, durante 15 dias. Ressalta-se que a ingestão do leite de cabra foi adicional, já que os cordeiros continuaram mamando naturalmente em suas mães. Também não foi possível demonstrar a existência de relação significativa ($p>0,05$) entre a quantidade de leite

fornecida e o número de vezes que os animais foram positivos na nPCR, utilizando-se o coeficiente de correlação de Spearman (Tabela 3).

Figura 3 - Resultados da PCR *nested* para lentivírus de pequenos ruminantes, em amostras de sangue de nove cordeiros que mamaram, durante 15 dias, leite de cabras infectadas.

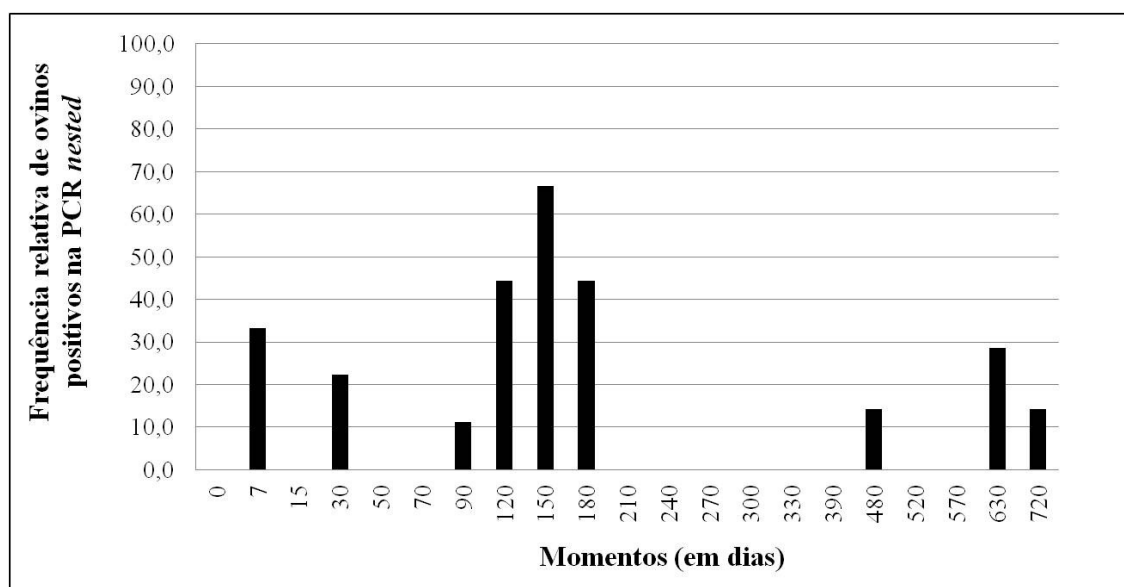


Tabela 3 - Relação entre a quantidade de leite ingerido por cordeiro e o número de resultados positivos na PCR *nested* para lentivírus de pequenos ruminantes, durante 720 dias de experimento.

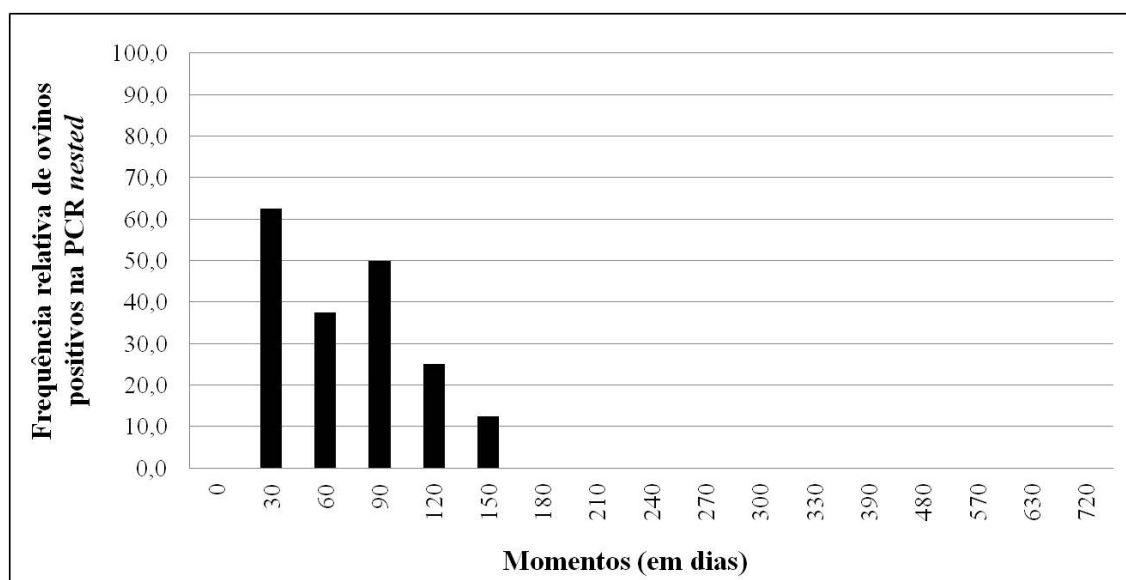
Animais	Volume ingerido de leite (mL)	Nº de resultados positivos
21	1.450	3
22	1.690	2
23	1.260	3
24	2.990	5
25	1.810	4
27	1.785	2
28	1.190	1
29	880	2
30	740	2
Média	1.532,78	2,67

Coeficiente de Spearman = 0,656 ($p > 0,05$).

Para o grupo contato, dos oito ovinos confinados com cabras infectadas, seis (75%) foram positivos na nPCR pelo menos duas vezes e os dois restantes (25%) apresentaram resultados negativos em todos os momentos avaliados. Em cinco animais (62,5%), detectou-se DNA proviral já aos 30 dias de confinamento e constatou-se o

outro animal positivo aos 90 dias de experimento (Figura 4). A partir do sexto mês de observação, resultados positivos não mais foram obtidos.

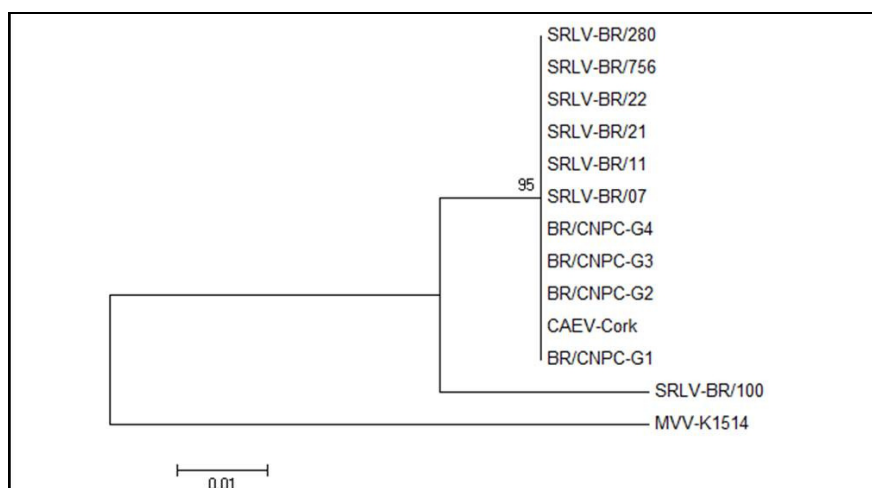
Figura 4 - Resultados da PCR *nested* para lentivírus de pequenos ruminantes, em amostras de sangue de oito ovinos criados em confinamento com cabras infectadas, durante 720 dias.



Análises filogenéticas demonstraram que os animais dos grupos colostro (SRLV-BR/07 e SRLV-BR/11), leite (SRLV-BR/21 e SRLV-BR/22) e contato (SRLV-BR/280 e SRLV-BR/756) adquiriram vírus altamente relacionado com o protótipo lentiviral caprino CAEV-Cork. Houve a formação de um *cluster* com *bootstrap* de 95%, juntamente com as sequências BR/CNPC. Estas representam a cepa circulante no rebanho das cabras utilizadas como fontes de infecção para os ovinos (Figura 5).

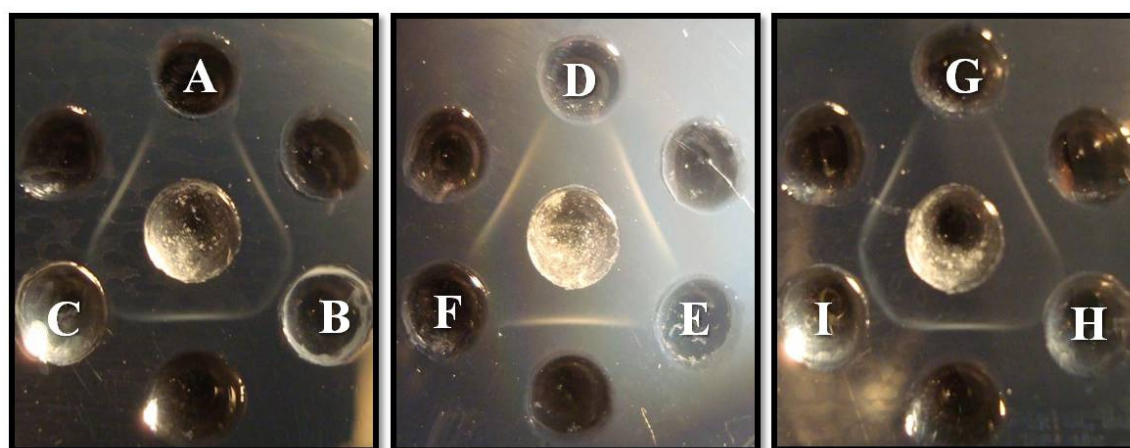
Verificou-se divergência de 3,4% entre as sequências do *cluster* citado e a SRLV-BR/100, obtida do controle positivo dos testes de nPCR, afastando a possibilidade de contaminação. A cepa MVV-K1514, que é um protótipo lentiviral ovino, foi a que mais se distanciou dos isolados deste estudo, divergindo em 10,8%. As sequências BR/CNPC-G1, BR/CNPC-G2, BR/CNPC-G3, BR/CNPC-G4, CAEV-Cork e MVV-K1514 foram obtidas no GenBank, numeradas em EU300976, EU300977, EU300978, EU300979, M33677 e M60610, respectivamente.

Figura 5 - Filogenia delineada a partir de sequências nucleotídicas parciais do gene *gag* de lentivírus de pequenos ruminantes. A barra horizontal indica o número de substituições por sítio.



Quanto à detecção de soroconversão, para os cordeiros do grupo colostro, foram considerados os resultados obtidos a partir dos 120 dias de idade, devido à ocorrência de anticorpos colostrais anti-LVPR, detectados por IB, ELISA e IDGA, no período de 1 a 70 dias após o nascimento. Aos 90 e 120 dias, não houve mais resultados positivos (Figura 6).

Figura 6 - Testes de imunodifusão em gel de agarose com amostras de soro do animal 11. [A] Resultado negativo ao nascimento, antes da mamada do colostro de cabras infectadas por lentivírus. [B] Após 24h, reação positiva devido à absorção de imunoglobulinas colostrais anti-LVPR. [C e D] Aos 7 e 15 dias pós-exposição, reações fraco positivas. [E, F e G] Aos 30, 50 e 330 dias, resultados negativos. [H] Reação fraco positiva aos 390 dias e [I] fortemente positiva aos 480 dias, demonstrando a soroconversão.



A técnica de IB detectou a soroconversão de três animais, dois do grupo colostro e um do grupo leite. Desses, dois também foram positivos em testes de ELISA e um em provas de IDGA (Tabela 4). Não houve manifestação clínica de lentivirose de pequenos ruminantes.

Tabela 4 - Testes sorológicos de *immunoblotting* (IB), ensaio imunoenzimático (ELISA) e imunodifusão em gel de agarose (IDGA), de três cordeiros infectados pelo lentivírus de pequenos ruminantes, a partir da ingestão de colostro (animais 2 e 11) e leite (animal 24) de cabras positivas.

Animais	Testes	Momentos (em dias)										
		70 a 210	240	270	300	330	390	480	520	570	630	720
2	IB	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	ELISA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	IDGA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	IB	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	ELISA	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	IDGA	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
24	IB	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
	ELISA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	IDGA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) negativo; (+) positivo

DISCUSSÃO

A positividade no teste de nPCR para LVPR caracteriza a viremia associada a células, a partir da constatação de DNA proviral (ALVAREZ et al., 2006). Portanto, os resultados obtidos neste trabalho apontaram a transmissão interespecífica do lentivírus de caprinos para ovinos.

Estudos anteriores já demonstraram a disseminação do vírus via secreções, inclusive identificando-o na água e no ar, possibilitando a infecção de animais suscetíveis a partir do contato prolongado com animais infectados (VILLORIA et al., 2013). Já é sabido, também, que o colostro e o leite são importantes meios de eliminação dos LVPR, possibilitando a infecção de neonatos e animais jovens (LARA et al., 2003; ÁLVAREZ et al., 2005; RAVAZZOLO et al., 2006; GREGORY et al., 2009b; SARDI et al., 2012). Entretanto, destaca-se aqui a importância dessas formas de transmissão para ocorrência de infecção cruzada.

Comparando-se os dados dos grupos colostro, leite e contato, observa-se uma proporção acumulada de 100% de cordeiros positivos na nPCR em até 15 dias após a mamada de colostro de cabras infectadas, enquanto que para o grupo que recebeu leite, esta proporção só atingiu 100% aos 150 dias e no caso da transmissão horizontal, obteve-se o máximo de 75% de positivos em até 90 dias de exposição. A transmissão do agente infeccioso a partir do colostro é facilitada pela maior permeabilidade intestinal nas primeiras 48 horas de vida (PREZIUSO et al., 2004). Entretanto, a ingestão de leite contaminado também é uma importante forma de transmissão, assim como o contato com animais infectados.

Ressalta-se ainda que a transferência de imunidade passiva colostrar não previne a infecção. Como pôde ser constatado, cordeiros que adquiriram imunoglobulinas anti-LVPR colostrais acabaram infectados por lentivírus justamente pela ingestão do colostro de cabras positivas. Isso se deve ao fato de o vírus associado a célula também poder ser transmitido (PREZIUSO et al., 2004; HERRMANN-HOESING et al., 2007) e a outros mecanismos virais de evasão do sistema imune, relacionados à variabilidade antigênica em consequência de erros de transcrição do RNA viral e recombinação gênica (PISONI et al., 2007; LEROUX e MORNEX, 2008; PISONI et al., 2010; L'HOMME et al., 2011; OLECH et al., 2012).

Após a primeira detecção de DNA proviral, os animais dos grupos colostro, leite e contato não apresentaram resultados positivos na nPCR continuamente. Intermitência já foi relatada por Alvarez et al. (2006), quando verificaram que a maioria dos cordeiros que receberam colostro de ovelhas positivas para LVPR não obtiveram resultados positivos seguidamente em amostras sanguíneas. De forma similar, Paula et al. (2009) observaram intermitência de positividade em amostras de sangue e de sêmen de caprinos inoculados com cepa CAEV-Cork.

Sendo assim, resultados negativos podem ocorrer em animais infectados devido à ausência do provírus ou pelo número insuficiente de células infectadas na amostra sanguínea, em determinado momento, uma vez que o número de células infectadas por LVPR no sangue é menor (BLACKLAWS, 2012). Maiores quantidades são observadas, por exemplo, em linfonodos, reservatórios para o vírus e na glândula mamária, principal sítio de replicação (RAVAZZOLO et al., 2006). Entretanto, mesmo analisando amostras

de leite de cabras e ovelhas, Barquero et al. (2013) observaram alternância entre positividade e negatividade para a detecção do DNA proviral.

Deve-se considerar, ainda, que nos padrões da normalidade do leucograma de um ovino, os valores absolutos de monócitos, alvos dos LVPR, podem variar de 0 a 750 células/ μ L, o que equivale, em valores relativos, ao intervalo de 0 a 6% (PUGH, 2005). Portanto, existe uma variação do número de células circulantes entre animais e mesmo para o mesmo animal, em diferentes momentos. Por isso, de forma a minimizar estes efeitos e aumentar a sensibilidade da nPCR, Tigre et al. (2006) recomendaram a utilização de 10mL de sangue, em vez de 5mL. Entretanto, conforme aqui demonstrado, isso não garante a detecção contínua do provírus no sangue de animais infectados.

O animal 11, do grupo colostro, foi o que mais apresentou resultados positivos na nPCR, o primeiro que soroconverteu e o único a possuir resultados positivos também no teste de IDGA, corroborando com Alvarez et al. (2006), que observaram uma correlação positiva entre o número de vezes em que o animal foi positivo na nPCR com a soroconversão. Por outro lado, apesar de 24 ovinos terem apresentado resultados positivos na nPCR, apenas três soroconverteram, não sendo observados sinais clínicos. Sabe-se, porém, que o tempo decorrido para a soroconversão após infecção por LVPR é variável (LARA et al., 2003; PAULA et al., 2009; RACHID et al., 2013; SOUZA et al., 2013) e que alguns animais simplesmente não soroconvertem (ÁLVAREZ et al., 2005).

Um dos fatores relacionados com a ausência de soroconversão ou soroconversão tardia diz respeito à própria patogenia do agente infeccioso, que envolve a restrição da replicação e a latência viral em monócitos e células precursoras na medula óssea, na forma de DNA proviral integrado ao genoma celular. Dessa forma, o vírus fica oculto (BLACKLAWS e HARKISS et al., 2010; BLACKLAWS, 2012) e a infecção persiste sem ativação do sistema imunológico (RAVAZZOLO et al., 2006; BRELLOU et al., 2007; LEROUX e MORNEX, 2008).

Outros autores sugerem, ainda, a possibilidade de ocorrer aquisição transitória do vírus devido a determinantes virais e imunológicos desconhecidos, que podem levar a não persistência da infecção. Neste caso, com o tempo, os animais deixam de apresentar resultados positivos na nPCR e em testes sorológicos (HERRMAN-HOESING et al., 2007; BARQUERO et al., 2013). Enfim, considerando essas informações, pode-se

afirmar que os dados obtidos neste trabalho demonstraram a ocorrência de infecção oculta e/ou transiente nos ovinos infectados por lentivírus caprino.

Alvarez et al. (2005) verificaram, pelo teste de ELISA, soropositividade de 55% (29/53) para cordeiros com 300 dias de idade, que receberam colostro de ovelhas positivas. Inclusive, os autores apontaram uma associação positiva e significativa entre o percentual de positividade e o volume de colostro ingerido, que foi de 200mL/Kg. Em contrapartida, a taxa de soroconversão constatada neste trabalho foi menor, apesar de a quantidade média de ingestão de colostro ter sido próxima (193,45mL/Kg). Esta divergência entre os resultados pode estar relacionada a metodologias diferentes de diagnóstico, carga viral dos inóculos e adaptação da cepa viral à espécie hospedeira, já que Alvarez et al. (2005) utilizaram colostro de ovelhas infectadas ao passo que neste estudo, foi oferecido colostro e leite de cabras infectadas.

Esta é outra questão a ser discutida, que diz respeito à interação entre vírus e hospedeiro. Já se constatou a transmissão interespecíes e a heterogeneidade dos LVPR em diversos estudos (SHAH et al., 2004a; ANGELOPOULOU et al., 2005; PISONI et al., 2005; GERMAIN e VALAS, 2006; REINA et al., 2006; GREGO et al., 2007; GJERSET et al., 2009; BERTOLOTTI et al., 2011; GIAMMARIOLI et al., 2011; OLECH et al., 2012; KUHAR et al., 2013), que não rejeitam a hipótese de que algumas cepas são mais bem adaptadas a caprinos e outras a ovinos (REINA et al., 2006).

A alta diversidade genética dos LVPR está associada à variação da patogenicidade e mesmo que infectados por uma mesma cepa viral, caprinos e ovinos respondem à infecção de forma diferente, influenciando nos resultados de diagnósticos sorológicos e moleculares (RACHID et al., 2013), inclusive nos achados clínicos (ANGELOPOULOU et al., 2005).

Na Espanha, Pérez et al. (2014) verificaram surto de artrite em rebanhos ovinos infectados por LVPR do subtipo B2, relacionado ao protótipo CAEV. Esses autores apontaram para a transmissão do vírus de caprinos para ovinos de forma natural, provavelmente por via respiratória ou através do leite, ocorrendo a sua adaptação ao novo hospedeiro e consequentemente o desenvolvimento da patologia. Segundo Glaria et al. (2009), esta adaptação relaciona-se com a aquisição de propriedades genéticas que conferem mudanças no fenotipo viral.

Nesse sentido, pode-se justificar a baixa taxa de soroconversão observada e a ausência de manifestação clínica também ao fato de os ovinos terem se infectado experimentalmente com uma cepa viral pouco adaptada a esses hospedeiros, caracterizada por Feitosa et al. (2010) como pertencente ao subtipo B1, oriunda de rebanho caprino leiteiro. Análises filogenéticas demonstraram que os animais adquiriram vírus altamente relacionado com a cepa padrão dos caprinos, a CAEV-Cork, se distanciando da cepa padrão dos ovinos, a MVV-K514.

CONCLUSÕES

Os LVPR podem ser transmitidos para ovinos a partir do contato com caprinos infectados e também por ingestão de colostro e leite de cabras infectadas. Entretanto, é provável que o grau de adaptação da cepa viral à espécie hospedeira tenha interferido na persistência da infecção, na taxa de soroconversão e na manifestação da enfermidade.

AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb) pelo fomento ao projeto e concessão de bolsa de doutorado, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento à pesquisa e a Embrapa Caprinos e Ovinos pelo apoio à execução do experimento.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, D.S.; CRAWFORD, T.B. CAE: viral arthritis-encephalitis syndrome in goats. **International Goat and Sheep Research**, v.1, n.2, p.168-172, 1980.
- ADEDEJI, A.O.; BARR, B.; GOMEZ-LUCIA, E.; MURPHY, B. A polytropic caprine arthritis encephalitis virus promoter isolated from multiple tissues from a sheep with

multisystemic lentivirus-associated inflammatory disease. **Viruses**, v.5, n.8, p.2005-2018, 2013.

ÁLVAREZ, V.; ARRANZ, J.; DALTABUIT-TEST, M.; LEGINAGOIKOA, I.; JUSTE, R.A.; AMORENA, B.; DE ANDRÉS, D.; LUJÁN, L.L.; BADIOLA, J.J.; BERRIATUA, E. Relative contribution of colostrum from Maedi-Visna virus (MVV) infected ewes to MVV-seroprevalence in lambs. **Research in Veterinary Science**, v.78, n.3, p.237-243, 2005.

ÁLVAREZ, V.; DALTABUIT-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 colostrum-associated Maedi-Visna virus (MVV) infection and relationship with ELISA-antibody status in lambs. **Research in Veterinary Science**, v.80, n.2, p.226-234, 2006.

ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G.; MARTINS, A.S.; PINHEIRO, R.R.; SANTOS, D.O. Fatores de risco na transmissão do lentivírus caprino pelo sêmen. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.8, p.1313-1319, 2006.

ANGELOPOULOU, K.; KARANIKOLAOU, K.; PAPANASTASOPOULOU, M. First partial characterisation of small ruminant lentiviruses from Greece. **Veterinary Microbiology**, v.109, n.1-2, p.1-9, 2005.

BARLOUGH, J.; EAST, N.; ROWE, J.D.; HOOSEAR, K.V.; DEROCK, E.; BIGORNIA, L.; RIMSTAD, E. Double-nested polymerase chain reaction for detection of caprine arthritis-encephalitis virus proviral DNA in blood, milk, and tissues of infected goats. **Journal of Virological Methods**, v.50, n.1-3, p.101-113, 1994.

BARQUERO, N.; GOMEZ-LUCIA, E.; ARJONA, A.; TOURAL, C.; LAS HERAS, A.; FERNÁNDEZ-GARAYZABAL, J.F.; DOMENECH, A. Evolution of specific antibodies and proviral DNA in milk of small ruminants infected by small ruminant lentivírus. **Viruses**, v.5, n.10, p.2614-2623, 2013.

BENAVIDES, J.; GARCÍA-PARIENTE, C.; FERRERAS, M. C.; FUERTES, M.; GARCÍA-MARÍN, J.F.; PÉREZ, V. Diagnosis of clinical cases of the nervous form of Maedi-Visna in 4- and 6- month old lambs. **The Veterinary Journal**, v. 174, n.3, p. 655-658, 2007.

BERTOLOTI, L.; MAZZEI, M.; PUGGIONI, G.; CAROZZA, M.L.; GIUDICI, S.D.; MUZ, D.; JUGANARU, M.; PATTA, C.; TOLARI, F.; ROSATI, S. Characterization of new small ruminant lentivirus subtype B3 suggests animal trade within the Mediterranean Basin. **Journal of General Virology**, v.92, n.8, p.1923-1929, 2011.

BLACKLAWS, B.A. HARKISS, G.D. Small Ruminant Lentiviruses and Human Immunodeficiency Virus: Cousins that Take a Long View. **Current HIV Research**, v.8, n.1, p.26-52, 2010.

BLACKLAWS, B.A. Small ruminant lentiviruses: Immunopathogenesis of visna-maedi and caprine arthritis and encephalitis virus. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.35, n.3, p.259-269, 2012.

BRELLOU, G.D.; ANGELOPOULOU, K.; POUTAHIDIS, T.; VLEMMAS, I. Detection of Maedi-Visna Virus in the liver and heart of naturally infected sheep. **Journal of Comparative Pathology**, v.136, n.1, p.27-35, 2007.

CASTRO, R.S.; GREENLAND, T.; LEITE, R.C.; GOUVEIA, A.; MORNEX, J.F.; CORDIER, G. Conserved sequence motifs involving the tat reading frame of Brazilian caprine lentiviruses indicate affiliations to both caprine arthritis–encephalitis virus and visna–maedi virus. **Journal of General Virology**, v.80, n.7, p.1583-1589, 1999.

CRAWFORD, T.B.; ADAMS, D.S. Caprine arthritis-encephalitis: clinical features and presence of antibody in selected goat populations. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.178, n.7, p.713-719, 1981.

CRUZ, E.T.; GONZÁLEZ, R.H.; RODRÍGUEZ, A.M.; ÁLVAREZ, H.R.; ORTEGA, M.E.T.; SCHMID, R.K.; SETIÉN, A.A. Detección de anticuerpos contra artritis encefalitis caprina (AEC) mediante inmunoelectrotransferencia. **Veterinária México**, v.34, n.2, p.119-127, 2003.

DANTAS, T.V.M.; ARAÚJO, S.A.C.; PINHEIRO, R.R.; ARAGÃO, M.A.C.; SILVA, J.B.A.; RICARTE, A.R.F.; RIBEIRO, A.L.; TEIXEIRA, M.F.S. Desenvolvimento e padronização de um ELISA indireto para diagnóstico de maedi visna em ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.1, p.181-187, 2008.

DAWSON, M. Pathogenesis of maedi-visna. **The Veterinary Record**, v.120, n.19, p.451- 454, 1987.

- DEUBELBEISS, M.; BLATTI-CARDINAUX, L.; ZAHNO, M.L.; ZANONI, R.; VOGT, H.R.; POSTHAUS, H. BERTONI, G. Characterization of small ruminant lentivirus A4 subtype isolates and assessment of their pathogenic potential in naturally infected goats. **Virology Journal**, v.11, n.65, p.1-11, 2014.
- FEITOSA, A.L.V.L.; TEIXEIRA, M.F.S.; PINHEIRO, R.R.; CUNHA, R.M.S.; LIMA, J.P.M.S.; ANDRIOLI, A.; DANTAS, T.V.M.; MELO, V.S.P.; PINHEIRO, D.C.S.N. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses from Northern Brazil. **Small Ruminant Research**, v.94, n.1-3, p.205-209, 2010.
- FEITOSA, A.L.V.L.; TEIXEIRA, M.F.S.; PINHEIRO, R.R.; PINHEIRO, A.A.; AZEVEDO, D.A.A.; ALVES, S.M. Primeiro isolamento de lentivírus de pequenos ruminantes em caprino naturalmente infectado em rebanho do Rio Grande do Norte, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.4, p.501-505, 2011.
- FRAS, M.; LEBOEUF, A.; LABRIE, F.M.; LAURIN, M.A.; SOHAL, J.S.; L'HOMME, Y. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses in mixed flocks: Multiple evidence of dual infection and natural transmission of types A2 and B1 between sheep and goats. **Infection, Genetics and Evolution**, v.19, p.97-104, 2013.
- GERMAIN, K.; VALAS, S. Distribution and heterogeneity of small ruminant lentivirus envelope subtypes in naturally infected sheep. **Virus Research**, v. 120, n.1-2, p. 156-162, 2006.
- GIAMMARIOLI, M.; BAZZUCCHI, M.; PUGGIONI, G. Phylogenetic analysis of small ruminant lentivirus (SRLV) in Italian flocks reveals the existence of novel genetic subtypes. **Virus Genes**, v.43, n.3, p.380-384, 2011.
- GJERSET, B.; JONASSEN, C.M.; RIMSTAD, E. Natural transmission and comparative analysis of small ruminant lentiviruses in the Norwegian sheep and goat populations. **Virus Research**, v.125, n.2, p.153-161, 2007.
- GJERSET, B.; RIMSTAD, E.; TEIGE, J.; SOETAERT, K.; JONASSEN, C.M. Impact of natural sheep-goat transmission on detection and control of small ruminant lentivirus group C infections. **Veterinary Microbiology**, v.135, n.3-4, p.231-238, 2009.
- GLARIA, I.; REINA, R.; CRESPO, H.; DE ANDRÉS, X.; RAMÍREZ, H.; BIESCAS, E.; PÉREZ, M.M.; BADIOLA, J.; LUJÁN, L.; AMORENA, B.; DE ANDRÉS, D.

Phylogenetic analysis of SRLV sequences from an arthritic sheep outbreak demonstrates the introduction of CAEV-like viruses among Spanish sheep. **Veterinary Microbiology**, v.138, n.1-2, p.156-162, 2009.

GREGO, E.; PROFITI, M.; GIAMMARIOLI, M.; GIANNINO, L.; RUTILI, D.; WOODALL, C.; ROSATI, S. Genetic heterogeneity of small ruminant lentiviruses involves immunodominant epitope of capsid antigen and affects sensitivity of single-strain-based immunoassay. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.9, n.4, p.828-832, 2002.

GREGO, E.; BERTOLOTTI, L.; QUASSO, A.; PROFITI, M.; LACERENZA, D.; MUZ, D.; ROSATI, S. Genetic characterization of small ruminant lentivirus in italian mixed flocks: evidence for a novel genotype circulating in a local goat population. **Journal of General Virology**, v.88, n.12, p.3423-3427, 2007.

GREGORY, L.; BIRGEL JÚNIOR, E.H.; LARA, M.C.C.S.H.; ANGELINI, M.; ARAÚJO, W.P.; RIZZO, H.; MAIORKA, P.C.; CASTRO, R.S.; KIRALY, A.C.M.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H. Clinical features of indurative mastitis caused by caprine arthritis encephalitis virus. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v.2, n.2, p.64-68, 2009a.

GREGORY, L.; LARA, M.C.C.S.H.; VILLALOBOS, E.M.C.; HASEGAWA, M.Y.; CASTRO, R.S.; RODRIGUES, J.N.M.; ARAÚJO, J.; KELLER, L.W.; DURIGON, E.L. Detecção do vírus da artrite encefalite caprina em amostras de leite de cabras pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e nested-PCR. **ARS Veterinária**, v.25, n.3, p.142-146, 2009b.

GRIMBERG, J.; NOWOSCHIK, S.; BELLUSCIO, L.; MCKEE, R.; TURCK, A.; EISENBERG, A. A simple and efficient non-organic procedure for the isolation of genomic DNA from blood. **Nucleic Acids Research**, v.17, n.20, p.83-90, 1989.

HALL, T.A. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v.41, p.95-98, 1999.

- HERRMANN-HOESING, L.M.; PALMER, G.H.; KNOWLES, D.P. Evidence of proviral clearance following postpartum transmission of an ovine lentivírus. **Virology**, v.362, n.1, p.226-234, 2007.
- KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v.16, n.2, p.111-120, 1980.
- KUHAR, U.; BARLIC-MAGANJA, D.; GROM, J. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses detected in Slovenia. **Veterinary Microbiology**, v.162, n.1, p.201-206, 2013.
- LAAMANEN, I.; JAKAVA-VILJANEN, M.; SIHVONEN, L. Genetic characterization of maedi-visna virus (MVV) detected in Finland. **Veterinary Microbiology**, v.122, n.3-4, p.357-365, 2007.
- LARA, M.C.C.S.H.; BIRGEL JÚNIOR, E.H.; FERNANDES, M.A.; BIRGEL, E.H. Infecção experimental do vírus da artrite-encefalite dos caprinos em cabritos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, n.1, p.51-54, 2003.
- LARA, M.C.C.S.H.; BIRGEL JÚNIOR, E.H.; GREGORY, L.; BIRGEL, E.H. Aspectos clínicos da artrite-encefalite dos caprinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.6, p.736-740, 2005.
- LEROUX, C.; VUILLERMOZ, S.; MORNEX, J.F.; GREENLAND, T. Genomic heterogeneity in the *pol* region of ovine lentiviruses obtained from bronchoalveolar cells of infected sheep from France. **Journal of General Virology**, v.76, n.6, p.1533-1537, 1995.
- LEROUX, C.; CHASTANG, J.; GREENLAND, T.; MORNEX, J.F. Genomic heterogeneity of small ruminant lentiviruses: existence of heterogeneous populations in sheep and of the same lentiviral genotypes in sheep and goats. **Archives of Virology**, v.142, n.6, p.1125-1137, 1997.
- LEROUX, C.; MORNEX, J.F. Retroviral infections in sheep and the associated diseases. **Small Ruminant Research**, v.76, n.1-2, p.68-76, 2008.

LEROUX, C.; CRUZ, J.C.M.; MORNEX, J.F. SRLVs: A genetic continuum of lentiviral species in sheep and goats with cumulative evidence of cross species transmission. **Current HIV Research**, v.8, n.1, p.94-100, 2010.

L'HOMME, Y.; OUARDANI, M.; LÉVESQUE, V.; BERTONI, G.; SIMARD, C.; PISONI, G. Molecular characterization and phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses isolated from Canadian sheep and goat. **Virology Journal**, v.8, n.271, p.1-7, 2011.

LIMA, C.C.V.; COSTA, J.N.; SOUZA, T.S.; MARTINEZ, P.M.; COSTA NETO, A.O.; AZEVEDO, D.A.A.; PINHEIRO, R.R.; BRITO, R.L.L. Imunodiagnóstico para a artrite-encefalite caprina em rebanhos do semiárido baiano, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, n.4, p.358-364, 2013.

MARTINEZ, P.M.; COSTA, J.N.; SOUZA, T.S.; COSTA NETO, A.O.; PINHEIRO, R.R. Sistemas de criação de ovinos e ocorrência de anticorpos contra o vírus da Maedi-Visna na Microrregião de Juazeiro – Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, n.2, p.342-353, 2010.

NÓBREGA JÚNIOR, J.E.; RIET-CORREA, F.; NÓBREGA, R.S.; MEDEIROS, J.M.; VASCONCELOS, J.S.; SIMÕES, S.V.; TABOSA, I.M. Mortalidade perinatal de cordeiros no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.3, p.171-178, 2005.

OLECH, M.; RACHID, A.; CROISÉ, B.; KUZMAK, J.; VALAS, S. Genetic and antigenic characterization of small ruminant lentiviruses circulating in Poland. **Virus Research**, v.163, n.2, p.528-536, 2012.

OLIVEIRA, M.M.M.; MELO, M.A.; ANDRADE, P.P.; GOMES, S.M.; CAMPOS, A.C.; NASCIMENTO, S.A.; CASTRO, R.S. Western Blot para o diagnóstico das infecções pelos lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos: um método simples para a produção de antígeno. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, n.3, p.263-270, 2008.

PAULA, N.R.O.; ANDRIOLI, A.; CARDOSO, J.F.S.; PINHEIRO, R.R.; SOUSA, F.M.L.; SOUZA, K.C.; ALVES, F.S.F.; CAMPELLO, C.C.; RICARTE, A.R.F.; TEIXEIRA, M.F.S. Profile of the Caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in blood,

semen from bucks naturally and experimentally infected in the semi-arid region of Brazil. **Small Ruminant Research**, v.85, n.1, p.27-33, 2009.

PÉREZ, M.; BIESCAS, E.; REINA, R.; GLARIA, I.; MARÍN, B.; MARQUINA, A.; SALAZAR, E.; ÁLVAREZ, N.; DE ANDRÉS, D.; FANTOVA, E.; BADIOLA, J.J.; AMORENA, B.; LUJÁN, L. Small ruminant lentivirus-induced arthritis: clinicopathologic findings in sheep infected by highly replicative SRLV B2 genotype. **Veterinary Pathology Online**. Jan. 2014. Disponível em: <<http://vet.sagepub.com/content/early/2014/01/29/0300985813519654>>. Acesso em: 29 mai. 2014.

PETERHANS, E.; GREENLAND, T.; BADIOLA, J.; HARKISS, G.; BERTONI, G.; AMORENA, B.; ELIASZEWICZ, M.; JUSTE, R.; KRAßNIG, R.; LAFONT, J.; LENIHAN, P.; PÉTURSSON, G.; PRITCHARD, G.; THORLEY, J.; VITU, C.; MORNEJ, J.; PÉPIN, M. Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. **Veterinary Research**, v.35, n.3, p. 257-274, 2004.

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F.; ANDRIOLI, A. Perfil de propriedades no estado do Ceará relacionando à presença do lentivírus caprino. **Ciência Animal**, v.14, n.1, p.29-37, 2004.

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; YORINORI, E.H.; ANDRIOLI, A. Comparação de três técnicas de produção do antígeno do lentivírus caprino utilizado no teste de imunodifusão em gel de ágar. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.42, n.6, p.453-458, 2005.

PINHEIRO, R.R.; OLOTEGUI, C.D.C.; GOUVEIA, A.M.G.; ARAÚJO, S.C.; ANDRIOLI, A. Desenvolvimento de dot-blot para detecção de anticorpos para o vírus da artrite-encefalite caprina em caprinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.101, n.557-558, p.51-56, 2006.

PINHEIRO, R.R.; ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G.; ARAGÃO, M.A.C.; MARTINEZ, P.M. Avaliação de antígenos para o diagnóstico de lentivírus em rebanho caprino sob programa de controle. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.1, p.133-137, 2010.

PINHEIRO, R.R.; BRITO, R.L.L.; RODRIGUES, A.S.; DIAS, R.P.; ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G. Protocolo de immunoblotting para diagnóstico da artrite-encefalite caprina. **Comunicado Técnico 122**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2011. 4p.

PISONI, G.; QUASSO, A.; MORONI, P. Phylogenetic analysis of small-ruminant lentiviruses subtype B1 in mixed flocks: Evidence for natural transmission from goats to sheep. **Virology**, v.339, n.2, p.147-152, 2005.

PISONI, G.; BERTONI, G.; PURICELLI, M.; MACCALLI, M.; MORONI, P. Demonstration of coinfection with and recombination by caprine arthritis-encephalitis virus and maedi-visna virus in naturally infected goats. **Journal of Virology**, v.81, n.10, p.4948-4955, 2007.

PISONI, G.; BERTONI, G.; MANAROLLA G.; VOGT, H.R.; SCACCABAROZZI, L.; LOCATELLI, C.; MORONI, P. Genetic analysis of small ruminant lentiviruses following lactogenic transmission. **Virology**, v.407, n.1, p.91-99, 2010.

PREZIUSO, S.; RENZONI, G.; ALLEN, T. E.; TACCINI, E.; ROSSI, G.; DEMARTINI, J. C.; BRACA, G. Colostral transmission of Maedi-visna virus: sites of viral entry in lambs born from experimentally infected ewes. **Veterinary Microbiology**, v. 104, n.3-4, p.157-164, 2004.

PUGH, D.G. **Clínica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. 513p.

RACHID, A.; CROISÉ, B.; RUSSO, P.; VIGNONI, M.; LACERENZA, D.; ROSATI, S.; KUZMAK, J.; VALAS, S. Diverse host-virus interactions following caprine arthritis-encephalitis virus infection in sheep and goats. **Journal of General Virology**, v.94, n.3, p.634-642, 2013.

RAVAZZOLO, A.P.; NENCI, C.; VOGT, H.R.; WALDVOGEL, A.; OBEXER-RUFF, G.; PETERHANS, E.; BERTONI, G. Viral load, organ distribution, histopathological lesions and cytokine mRNA expression in goats infected with a molecular clone of the caprine arthritis encephalitis virus. **Virology**, v. 350, n.1, p.116-127, 2006.

REINA, R.; MORA, M.I.; GLARIA, I.; GARCÍA, I.; SOLANO, C.; LUJÁN, L.; BADIOLA, J.J.; CONTRERAS, A.; BERRIATUA, E.; JUSTE, R. MAMOUN, R.Z.; ROLLAND, M.; AMORENA, B.; DE ANDRÉS, D. Molecular characterization and

phylogenetic study of Maedi Visna and Caprine Arthritis Encephalitis viral sequences in sheep and goats from Spain. **Virus Research**, v.121, n.2, p.189-198, 2006.

REINA, R.; GREGO, E.; PROFITI, M.; GLARIA, I.; ROBINO, P.; QUASSO, A.; AMORENA, B.; ROSATI, S. Development of specific diagnostic test for small ruminant lentivirus genotype E. **Veterinary Microbiology**, v.138, n.3-4, p.251-257, 2009.

REINA, R.; BERTOLOTTI, L.; GIUDICI, S.D.; PUGGIONI, G.; PONTI, N.; PROFITI, M.; PATTA, C.; ROSATI, S. Small ruminant lentivirus genotype E is widespread in Sarda goat. **Veterinary Microbiology**, v.144, n.1-2, p.24-31, 2010.

RIMSTAD, E.; EAST, N.E.; TORTEN, M.; HIGGINS, J.; DEROCK, E.; PEDERSEN, N.C. Delayed seroconversion following naturally acquired caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats. **American Journal of Veterinary Research**, v.54, n.11, p.1858-1862, 1993.

RODRIGUES, A.S.; BRITO, R.L.L.; PINHEIRO, R.R.; DIAS, R.P.; ALVES, S.M.; SOUZA, T.S.; SOUZA, K.C.; AZEVEDO, D.A.A.; ANDRIOLI, A.; MAGALHÃES, D.C.T.; TEIXEIRA, M.F.S. Padronização do ELISA indireto e Western Blot para o diagnóstico da artrite-encefalite caprina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.2, p.417-424, 2014.

ROLLAND, M.; MOONEY, J.; VALAS, S.; PERRIN, G.; MAMOUN, R.Z. Characterisation of an Irish caprine lentivirus strain – SRLV phylogeny revisited. **Virus Research**, v.85, n.1, p.29-39, 2002.

SALTARELLI, M.; QUERAT, G.; KONINGS, D.A.M.; VIGNE, R.; CLEMENTS, J.E. Nucleotide sequence and transcriptional analysis of molecular clones of CAEV which generate infectious virus. **Virology**, v.179, n.1, p.347-364, 1990.

SARDI, S.I.; TORRES, J.A.; BRANDÃO, C.F.L.; TIGRE, D.M.; CAMPOS, G.S. Early detection of goats infected with lentivirus small ruminant virus by ELISA assay. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.11, n.1, p.35-40, 2012.

SHAH, C.A.; BÖNI, J.; HUDER, J.B.; VOGT, H.R.; MÜHLLHER, J.; ZANONI, R.; MISEREZ, R.; LUTZ, H.; SCHÜPBACH, J. Phylogenetic analysis and reclassification of caprine and ovine lentiviruses based on 104 new isolates: evidence for regular sheep-

to-goat transmission and world-wide propagation through livestock trade. **Virology**, v.319, n.1, p.12-26, 2004a.

SHAH, C.; HUDER, J. B.; BÖNI, J.; SCHÖNMANN, M.; MÜHLHERR, J.; LUTZ, H.; SCHÜPBACH, J. Direct evidence for natural transmission of small-ruminant Lentiviruses of subtype A4 from goat to sheep and vice versa. **Journal of Virology**, v. 78, n.14, p.7518-7522, 2004b.

SIMÕES, S.V.D.; COSTA, R.G.; SOUZA, P.M.; MEDEIROS, A.N.; VILAR, A.L.T. Imunidade passiva, morbidade neonatal e desempenho de cabritos em diferentes manejos de colostro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.4, p.219-224, 2005.

SOUZA, K.C.; PINHEIRO, R.R.; SANTOS, D.O.; BRITO, R.L.L.; RODRIGUES, A.S.; SIDER, L.H.; PAULA, N.R.O.; AVILA, A.A.; CARDOSO, J.F.S.; ANDRIOLI, A. Transmission of the caprine arthritis-encephalitis virus through artificial insemination. **Small Ruminant Research**, v.109, n.2-3, p.193-198, 2013.

SOUZA, T.S.; PINHEIRO, R.R.; LIMA, C.C.V.; COSTA, J.N. Transmissão interespecie de lentivírus de pequenos ruminantes: Revisão e Desafios. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n.1, p.23-34, 2012.

TAMURA, K.; NEI, M.; KUMAR, S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. **Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)**, v.101, n.30, p.11030-11035, 2004.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution**, v.28, n.10, p.2731-2739, 2011.

THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v.22, n.22, p.4673-4680, 1994.

TIGRE, D.M.; CAMPOS, G.S.; SARDI, S.I. Isolamento e identificação do vírus da artrite encefalite caprina, a partir do co-cultivo de células mononucleares do sangue com

células de membrana sinovial de cabra. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.5, n.2, p.124-131, 2006.

TORRES, J.A.; CAMPOS, G.S.; FREITAS, M.M.; BRANDÃO, C.F.L.; SARDI, S.I. Produção de antígeno viral para o diagnóstico da artrite-encefalite caprina utilizando um teste imunoenzimático (ELISA). **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.8, n.2, p.107-114, 2009.

VILLORIA, M.; LEGINAGOIKOA, I.; LUJÁN, L.; PÉREZ, M.; SALAZAR, E.; BERRIATUA, E.; JUSTE, R.A.; MINGUIJÓN, E. Detection of Small Ruminant Lentivirus in environmental samples of air and water. **Small Ruminant Research**, v.110, n.2-3, p.155-160, 2013.

YANAKA, R.; CAMARGO, D.G.; BOVINO, F.; SANTOS, W.A.; DÓCUSSE, M.R.; CAVASSANO, B.S.; FEITOSA, F.L.F. Período de absorção intestinal de macromoléculas em cabritos recém-nascidos após a ingestão de colostro bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.8, p.794-802, 2012.

ZANONI, R.G. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses. **Journal of General Virology**, v.79, p.1951-1961, 1998.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

A partir dos resultados expostos e das informações disponíveis na literatura especializada, verifica-se que os LVPR continuarão a representar um importante entrave para o desenvolvimento da cadeia produtiva da caprino-ovinocultura. Este impasse impõe-se pela própria dificuldade de se controlar a disseminação do agente infeccioso e pela ausência de ações efetivas dos programas oficiais de sanidade para pequenos ruminantes, apesar de regulamentação de 2004, dada pela Instrução Normativa Nº 87 do Ministério da Agricultura.

É pertinente lembrar que a ausência de medidas sanitárias adequadas propiciou a disseminação dos LVPR, com o comércio internacional de animais, visando o melhoramento de raças locais. Aqui mesmo, na Bahia, na década de 80, houve importação de caprinos leiteiros do Canadá, que introduziram o vírus no estado. Na época, foi necessário realizar testes de IDGA, na França, para confirmar o quadro de artrite-encefalite caprina. Entretanto, a descrença e a negligência, alimentadas pelo mercado especulativo e modista, deixaram o lentivírus se perpetuar nos rebanhos, causando, anos mais tarde, a extinção de sistemas leiteiros no Estado.

É fato que o diagnóstico das lentiviroses é problemático. As características etiopatogênicas do vírus prejudicam a eficácia tanto dos métodos diretos quanto dos métodos indiretos. Por conta disso, necessita-se de uma reavaliação das provas laboratoriais a serem utilizadas oficialmente, principalmente quando se considera a heterogeneidade das cepas e a possibilidade de transmissão interespecífica. A realidade é complexa e exige medidas de defesa sanitária à altura. Cada método de diagnóstico tem as suas vantagens e desvantagens e precisa ser aplicado conforme a sua capacidade e finalidade, seja esta de triagem de rebanhos, levantamentos epidemiológicos, confirmação de resultados, classificação taxonômica, prevenção, controle e erradicação da doença.

O controle não é fácil e a erradicação, praticamente impossível. Novos desafios surgem a cada dia, acompanhando a própria dinâmica evolutiva do agente infeccioso. Neste contexto, destaca-se a infecção cruzada, decorrente da capacidade adaptativa dos

lentivírus aos seus hospedeiros. Este tema tem sido intensamente pesquisado e foi o objeto principal deste trabalho.

Dentro do que foi aqui exposto, confirmou-se que os lentivírus podem ser transmitidos de caprinos para ovinos, principalmente pelo contato com animais infectados e pela ingestão de colostro e leite de fêmeas positivas, condições facilmente verificadas nos rebanhos consorciados. Ressalta-se, inclusive, que esse tipo de criação consorciada é muito comum no nordeste brasileiro. Entretanto, a persistência da infecção, assim como a manifestação clínica e soroconversão dependem do grau de adaptação da cepa circulante nas espécies hospedeiras.

Outra questão discutida e bastante pertinente diz respeito à duração da imunidade passiva contra LVPR. Muitas cartilhas e manuais técnicos recomendam a realização dos testes sorológicos após seis meses de idade, devido à presença de imunoglobulinas colostrais, que poderiam resultar em testes falso-positivos. Entretanto, demonstrou-se que mesmo o IB não mais detectou anticorpos anti-LVPR colostrais, nos cordeiros, após 90 e 120 dias de idade. Logo, as metodologias aqui utilizadas podem ser aplicadas após este período para detecção da resposta ativa.

Com isso, propostas de adequação sanitária para os sistemas de criação devem ser pesquisadas e aplicadas, incluindo-se os criadores na cadeia de conhecimentos, a partir da comunhão entre pesquisa, ensino e extensão. As universidades possuem papel decisivo neste processo, construindo ambientes de discussão continuada, provocando o desenvolvimento de conhecimento científico e apoiando as estratégias de defesa agropecuária.

Como perspectivas de continuidade à pesquisa, destaca-se a necessidade de verificar se as matrizes infectadas transmitirão o vírus para as suas crias, disseminando-o através do colostro e leite. Isso demonstraria que ovinos infectados pelo lentivírus caprino podem ser fontes de infecção, mesmo sem manifestar a doença, mas colaborando para a perpetuação do agente infeccioso no rebanho e, quem sabe, retransmitindo-o para os caprinos. Além disso, é importante associar os levantamentos epidemiológicos à caracterização taxonômica do vírus, de forma a identificar genótipos e subtipos circulantes nos rebanhos brasileiros. Isso aprimoraria os conhecimentos epidemiológicos e proporcionaria o refinamento das técnicas de diagnóstico, utilizando-se, por exemplo, antígenos recombinantes e *primers* mais específicos.

Portanto, fica claro que muito se avançou na pesquisa científica acerca dos lentivírus de pequenos ruminantes. Entretanto, faz-se urgente e necessária a adoção de atitudes que efetivamente contemplem os sistemas de criações, quanto à prevenção e controle da enfermidade.

REFERÊNCIAS

- ABREU, S.R.O.; CASTRO, R.S.; NASCIMENTO, S.A.; SOUZA, M.G. Produção de antígeno nucleoprotéico do vírus da artrite-encefalite caprina e comparação com o do vírus Maedi-Visna para utilização em teste de imunodifusão em ágar gel. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.18, n.2, p.57-60, 1998.
- ADAMS, D.S.; CRAWFORD, T.B. CAE: viral arthritis-encephalitis syndrome in goats. **International Goat and Sheep Research**, v.1, n.2, p.168-172, 1980.
- ADEDEJI, A.O.; BARR, B.; GOMEZ-LUCIA, E.; MURPHY, B. A polytropic caprine arthritis encephalitis virus promoter isolated from multiple tissues from a sheep with multisystemic lentivirus-associated inflammatory disease. **Viruses**, v.5, n.8, p.2005-2018, 2013.
- ALMEIDA, M.G.A.R.; ANUNCIAÇÃO, A.V.M.; FIGUEIREDO, A.; MARTINEZ, T.C.N.; LABORDA, S.S. Dados sorológicos sobre a presença e distribuição da artrite-encefalite caprina (CAE) no Estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.1, n.3, p.78-83, 2001.
- ALMEIDA, N.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; FERREIRA, R.C.S.; CALLADO, A.K.C.; FROTA, M.N.L.; MELO, A.C.M.; APRIGIO, C.J.L. Detecção de ovinos soropositivos para Maedi/Visna destinados ao abate na região metropolitana de Fortaleza. **Veterinária Notícias**, v.9, n.1, p. 59-63, 2003.
- ÁLVAREZ, V.; ARRANZ, J.; DALTABUIT-TEST, M.; LEGINAGOIKOA, I.; JUSTE, R.A.; AMORENA, B.; DE ANDRÉS, D.; LUJÁN, L.L.; BADIOLA, J.J.; BERRIATUA, E. Relative contribution of colostrum from Maedi-Visna virus (MVV) infected ewes to MVV-seroprevalence in lambs. **Research in Veterinary Science**, v.78, n.3, p.237-243, 2005.
- ÁLVAREZ, V.; DALTABUIT-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 colostrum-associated Maedi-Visna virus (MVV)

infection and relationship with ELISA-antibody status in lambs. **Research in Veterinary Science**, v.80, n.2, p.226-234, 2006.

ALVES, F.S.F.; PINHEIRO, R.R. Presença da artrite encefalite caprina a vírus (CAEV) no estado do Maranhão. In: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, p. 278, 1997. Gramado. **Anais...** Gramado: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 1997.

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

ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G.; MARTINS, A.S.; PINHEIRO, R.R.; SANTOS, D.O. Fatores de risco na transmissão do lentivírus caprino pelo sêmen. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.8, p.1313-1319, 2006.

ANGELOPOULOU, K.; KARANIKOLAOU, K.; PAPANASTASOPOULOU, M. First partial characterisation of small ruminant lentiviruses from Greece. **Veterinary Microbiology**, v.109, n.1-2, p.1-9, 2005.

ANGELOPOULOU, K.; BRELLOU, G.D.; VLEMMAS, I. Detection of Maedi-Visna Vírus in the kidneys of naturally infected sheep. **Journal of Comparative Pathology**, v. 134, n.4, p. 329-335, 2006.

ARAGÃO, M.A.C.; PINHEIRO, R.R.; ANDRIOLI, A.; ALVES, F.S.F.; OLIVEIRA, A.A.F.; TEIXEIRA, M.F.S. Maedi-Visna Vírus: Produção de antígeno, análise proteica e antigênica. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, n.4, p.423-429, 2008.

ARAÚJO, S.A.; DANTAS, T.V.M.; TEIXEIRA, M.F.S. Levantamento sorológico de maedi-visna em ovinos de abatedouro da Região Metropolitana de Fortaleza – CE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 31, 2004. São Luís. **Anais...** São Luís: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 2004 (CD).

ASSIS, A.P.M.V.; GOUVEIA, A.M.G. Evidências sorológicas de lentivírus (maedi-visna/artrite-encefalite caprina) em rebanhos nos estado de MG, RJ, BA e CE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23, 1994. Olinda. **Anais...** Olinda: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária, 1994, p. 104.

- AYELET, G.; ROGER, F.; TIBBO, M.; TEMBELY, S. Survey of Maedi-Visna (MV) in Ethiopian Highland Sheep. **The Veterinary Journal**, v.161, n.2, p.208-210, 2001.
- BANDEIRA, D.A.; CASTRO, R.S.; AZEVEDO, E.O.; MELO, L.S.S.; MELO, C.B. Seroprevalence of caprine arthritis–encephalitis virus in goats in the Cariri region, Paraíba state, Brazil. **The Veterinary Journal**, v. 180, n.3, p.399-401, 2008.
- BANKS, K.L.; ADAMS, D.S.; MCGUIRE, T.C.; CARLSON, J. Experimental infection of sheep by caprine arthritis-encephalitis virus and goats by progressive pneumonia virus. **American Journal of Veterinary Research**, v.44, n.12, p.2307-2311, 1983.
- BARLOUGH, J.; EAST, N.; ROWE, J.D.; HOOSEAR, K.V.; DEROCK, E.; BIGORNIA, L.; RIMSTAD, E. Double-nested polymerase chain reaction for detection of caprine arthritis-encephalitis virus proviral DNA in blood, milk, and tissues of infected goats. **Journal of Virological Methods**, v.50, n.1-3, p.101-113, 1994.
- BARQUERO, N.; GOMEZ-LUCIA, E.; ARJONA, A.; TOURAL, C.; LAS HERAS, A.; FERNÁNDEZ-GARAYZABAL, J.F.; DOMENECH, A. Evolution of specific antibodies and proviral DNA in milk of small ruminants infected by small ruminant lentivirus. **Viruses**, v.5, n.10, p.2614-2623, 2013.
- BARROS, I.N.; SILVA, N.S.; ALMEIDA, M.G.A.R.; ANUNCIACÃO, A.V.M.; LABORDA, S.S.; RAMALHO, E.J.; OLIVEIRA, E.M.D. Detection of antibodies to Visna/Maedi in sheep from Recôncavo Baiano. **Revista de Ciências Agrárias**, v.53, n.2, p.206-211, 2010.
- BATISTA, M.C.S.; CASTRO, R.S.; CARVALHO, F.A.A.; CRUZ, M.S.P.; SILVA, S.M.M.S.; REGO, E.W.; LOPES, J.B. Anticorpos anti-lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos integrantes de nove municípios piauienses. **Ciência Veterinária dos Trópicos**, v.7, n. 2-3, p. 75-81, 2004.
- BENAVIDES, J.; GARCÍA-PARIENTE, C.; FERRERAS, M. C.; FUERTES, M.; GARCÍA-MARÍN, J.F.; PÉREZ, V. Diagnosis of clinical cases of the nervous form of Maedi-Visna in 4- and 6- month old lambs. **The Veterinary Journal**, v. 174, n.3, p. 655-658, 2007.
- BENAVIDES, J.; FUERTES, M.; GARCÍA-PARIENTE, C.; OTAOLA, J.; DELGADO, L.; GIRALDEZ, J.; MARÍN, J.F.G.; FERRERAS, M.C.; PÉREZ, V.

Impact of maedi-visna in intensively managed dairy sheep. **The Veterinary Journal**, v.197, n.3, p.607-612, 2013.

BERTOLOTTI, L.; MAZZEI, M.; PUGGIONI, G.; CAROZZA, M.L.; GIUDICI, S. D.; MUZ, D.; JUGANARU, M.; PATTA, C.; TOLARI, F.; ROSATI, S. Characterization of new small ruminant lentivirus subtype B3 suggests animal trade within the Mediterranean Basin. **Journal of General Virology**, v.92, n.8, p.1923-1929, 2011.

BETHYL LABORATORIES. **Goat IgG ELISA Quantitation Set**. Montgomery, Alabama, USA, 12p. Disponível em: <<http://www.bethyl.com/product/E50-104>>. Acesso em: 19 dez 2013.

BLACKLAWS, B.A.; BERRIATUA, E.; TORSTEINSDOTTIR, S.; WATT, N.J.; ANDRES, D.; KLEIN, D.; HARKISS, G.D. Transmission of small ruminant lentiviruses. **Veterinary Microbiology**, v.101, n.3, p.199-208, 2004.

BLACKLAWS, B.A. HARKISS, G.D. Small Ruminant Lentiviruses and Human Immunodeficiency Virus: Cousins that Take a Long View. **Current HIV Research**, v.8, n.1, p.26-52, 2010.

BLACKLAWS, B.A. Small ruminant lentiviruses: Immunopathogenesis of visna-maedi and caprine arthritis and encephalitis virus. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.35, n.3, p.259-269, 2012.

BORGES, A.S.; FEITOSA, F.L.F.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H.; MENDES, L.C.N. Influência da forma de administração e da quantidade fornecida de colostro sobre a concentração de proteína total e de suas frações eletroforéticas no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.5, p.629-634, 2001.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, 2012. 71p.

BRELLOU, G.D.; ANGELOPOULOU, K.; POUTAHIDIS, T.; VLEMMAS, I. Detection of Maedi-Visna Virus in the liver and heart of naturally infected sheep. **Journal of Comparative Pathology**, v.136, n.1, p.27-35, 2007.

BRITO, R.L.L. **Implicações da artrite-encefalite caprina na reprodução, produção e na qualidade do leite de cabras**. 2009. 109f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia).

Centro de Ciências Agrárias e Biológicas. Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, 2009.

BRODIE, S.J.; DE LA CONCHA-BERMEJILLO, A.; SNOWDER, G.D.; DEMARTINI, J.C. Current concepts in the epizootiology, diagnosis and economic importance of ovine progressive pneumonia in North America: A review. **Small Ruminant Research**, v.27, n.1, p.1-17, 1998.

BROUGHTON-NEISWANGER, L.E.; WHITE, S.N.; KNOWLES, D.P.; MOUSEL, M.R.; LEWIS, G.S.; HERNDON, D.R.; HERRMANN-HOESING, L.M. Non-maternal transmission is the major mode of ovine lentivirus transmission in a ewe flock: A molecular epidemiology study. **Infection, Genetics and Evolution**, v.10, n.7, p.998-1007, 2010.

CALLADO, A.K.C.; CASTRO, R.S.; TEIXEIRA, M.F.S. Lentivírus de pequenos ruminantes (CAEV e Maedi-Visna): Revisão e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.21, n.3, p.87-97, 2001.

CALLADO, A.K.C.; FALCÃO, L.P.C.A.; CASTRO, R.S.; OLIVEIRA, E.J.C.; FALCÃO FILHO, M.C.A.; ARRUDA, E.T.; NASCIMENTO, S.A.; CAMPOS, K.M.T.; MELO, L.E.H.; MENEZES, V.L.M. Levantamento sorológico para CAE em caprinos leiteiros do estado de Pernambuco. In: XI CONGRESSO LATINOAMERICANO, V CONGRESSO BRASILEIRO, III CONGRESSO NORDESTINO DE BUIATRIA, 2003, Salvador. **Anais...** 2003, p.50, 2003.

CASTRO, R.S.; NASCIMENTO, S.A.; ABREU, S.R.O. Evidência sorológica da infecção pelo vírus da artrite-encefalite caprina em caprinos leiteiros do Estado de Pernambuco. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.46, n.5, p.571-572, 1994.

CASTRO, R.S.; GREENLAND, T.; LEITE, R.C.; GOUVEIA, A.; MORNEX, J.F.; CORDIER, G. Conserved sequence motifs involving the tat reading frame of Brazilian caprine lentiviruses indicate affiliations to both caprine arthritis–encephalitis virus and visna–maedi virus. **Journal of General Virology**, v.80, n.7, p.1583-1589, 1999.

CASTRO, R.S.; AZEVEDO, E.O.; TABOSA, I.; NASCIMENTO, S.A.; OLIVEIRA, M.M.M. Anticorpos para o vírus da artrite-encefalite caprina em animais sem raça

definida (SRD) de abatedouros dos estados de Pernambuco e Paraíba. **Revista Ciência Veterinária nos Trópicos**, v.5, n.2/3, p.121-123, 2002.

CAVALCANTE, F.R.A.; ANDRIOLI, A.; PINHEIRO, R.R.; SOUZA, K.C.; VERAS, A.K.A.; LOPES, T.A.; SOUSA, S.D.; SILVA, P.A.F. Detecção do vírus da Artrite-Encefalite Caprina por nested PCR e nested RT-PCR em ovócitos e fluido uterino. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.80, n.4, p.381-386, 2013.

CELER JR., V.; CELER, V.; NEMCOVÁ, H.; ZANONI, R.G.; PETERHANS, E. Serologic diagnosis of ovine lentiviruses by whole virus ELISA and AGID test. **Journal of Veterinary Medicine**, v.45, n.3, p.183-188, 1998.

CERVENAK, J.; KACSKOVICS, I. The neonatal Fc receptor plays a crucial role in the metabolism of IgG in livestock animals. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.128, n.1-3, p.171-177, 2009.

CLEMENTS, J.E.; ZINK, M.C. Molecular biology and pathogenesis of animal lentivirus infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v.9, n.1, p.100-117, 1996.

CORTEZ-MOREIRA, M.; OELEMANN, W.M.R.; LILENBAUM, W. Comparison of serological methods for the diagnostic of caprine arthritis-encephalitis (CAE) in Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.36, n.1, p.48-50, 2005.

COSTA, J.N.; PEIXOTO, A.P.C.; KOHAYAGAWA, A.; SOUZA, T.S. Proteinograma sérico de bezerras da raça Holandesa do nascimento aos 150 dias de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.4, p.267-275, 2007.

COSTA, J.N.; SILVA, D.F.M.; LIMA, C.C.V.; SOUZA, T.S.; ARAÚJO, A.L.; COSTA NETO, A.O.; ALMEIDA, M.A.O. Falha da transferência de imunidade passiva em cordeiros mestiços (Santa Inês X Dorper) e estudo do proteinograma do nascimento até o desmame. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, n.2, p.114-120, 2013.

COSTA, L.S.P.; LIMA, P.P.; CALLADO, A.K.C.; NASCIMENTO, S.A.; CASTRO, R.S. Lentivírus de pequenos ruminantes em ovinos Santa Inês: Isolamento, identificação pela PCR e inquérito sorológico no estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.74, n.1, p.11-16, 2007.

CRAWFORD, T.B.; ADAMS, D.S. Caprine arthritis-encephalitis: clinical features and presence of antibody in selected goat populations. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.178, n.7, p.713-719, 1981.

CRUZ, E.T.; GONZÁLEZ, R.H.; RODRÍGUEZ, A.M.; ÁLVAREZ, H.R.; ORTEGA, M.E.T.; SCHMID, R.K.; SETIÉN, A.A. Detección de anticuerpos contra artritis encefalitis caprina (AEC) mediante inmunoelectrotransferencia. **Veterinária México**, v.34, n.2, p.119-127, 2003.

CRUZ, J.C.M.; GOUVEIA, A.M.G.; SOUZA, K.C.; BRAZ, G.F.; TEIXEIRA, B.M.; HEINEMANN, M.B.; REIS, J.K.P.; PINHEIRO, R.R.; ANDRIOLI, A. Caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) detection in semen of endangered goat breeds by nested polymerase chain reaction. **Small Ruminant Research**, v.85, n.2, p.149-152, 2009a.

CRUZ, R.B.; PUTINI, V.B.; SANTANA, G.S.; JORGE, J.S.; COELHO, I.; SILVA, D.L.; ZACHARIAS, F.; TIGRE, D.; CERQUEIRA, R.B. Estudo comparativo da sensibilidade e da especificidade de ELISA indireto com o teste de imunodifusão em gel de agarose no diagnóstico da artrite-encefalite caprina (CAEV). **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**, v.7, n.3, p.355-364, 2009b.

CUNHA, R.G.; NASCIMENTO, M.D. Ocorrência de anticorpos para o vírus da artrite-encefalite caprina em soros de caprinos do estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.17, n.2, p.72-75, 1995.

DAL PIZZOL, M.; RAVAZZOLO, A.P.; GONÇALVES, I.P.D.; HOTZEL, I.; FERNANDES, J.C.T.; MOOJEN, V. Maedi-Visna: Evidência de ovinos infectados no Rio Grande do Sul, Brasil, 1987-1989. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.17, p.65-76, 1989.

DANTAS, T.V.M.; ARAÚJO, S.A.C.; PINHEIRO, R.R.; ARAGÃO, M.A.C.; SILVA, J.B.A.; RICARTE, A.R.F.; RIBEIRO, A.L.; TEIXEIRA, M.F.S. Desenvolvimento e padronização de um ELISA indireto para diagnóstico de maedi visna em ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.1, p.181-187, 2008.

DAWSON, M. Caprine arthritis-encephalitis. **In Practice**, v.9, p.8-11, 1987a.

DAWSON, M. Pathogenesis of maedi-visna. **The Veterinary Record**, v.120, n.19, p.451- 454, 1987b.

DEUBELBEISS, M.; BLATTI-CARDINAUX, L.; ZAHNO, M.L.; ZANONI, R.; VOGT, H.R.; POSTHAUS, H. BERTONI, G. Characterization of small ruminant lentivirus A4 subtype isolates and assessment of their pathogenic potential in naturally infected goats. **Virology Journal**, v.11, n.65, p.1-11, 2014.

DINIZ, B.L.M. **Estudo zoonosológico da caprinocultura e da ovinocultura, e soroprevalência das lentiviruses de pequenos ruminantes na microrregião do Alto Médio Guruguia, na região sul do Piauí. Teresina.** 2011, 178f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí. Teresina, 2011.

EDELWEIS, G.; TIGRE, D.; NORONHA, R.; QUEIROZ, L.; CAMPOS, G. S.; SARDI, S. I. Ocorrência de anticorpos contra o vírus da Artrite Encefalite Caprina em caprinos jovens de diferentes municípios do estado da Bahia. In: XXVIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 2001, Salvador. **Anais...** 2001.

ELOY, A.M.X.; ANDRADE, M.L.R.; PINHEIRO, R.R.; SILVA, N.M.M.; BRITO, R.L.L.; SANTIAGO, L.B.; LOBO, R.N.B.; FURTADO, J.R. Estudo da dinâmica da absorção proteica do colostro em crias Moxotó e Saanen no Ceará. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, n.4, p.351-357, 2013.

FALCÃO, L.S.P.C.A.; CAMPOS, K.M.T.; CALLADO, A.K.C.; CASTRO, R.S.; OLIVEIRA, E.J.C.; FALCÃO FILHO, M.C.A.; NASCIMENTO, S.A.; MELO, L.E.H.; ARRUDA, E.T. Anticorpos contra lentivírus de pequenos ruminantes (CAEV e Maedi-Visna) em ovinos Santa Inês do estado de Pernambuco. In: XI CONGRESSO LATINOAMERICANO, V CONGRESSO BRASILEIRO, III CONGRESSO NORDESTE DE BUIATRIA, 2003, Salvador. **Anais...** 2003, p.50.

FEITOSA, A.L.V.L.; TEIXEIRA, M.F.S.; PINHEIRO, R.R.; CUNHA, R.M.S.; LIMA, J.P.M.S.; ANDRIOLI, A.; DANTAS, T.V.M.; MELO, V.S.P.; PINHEIRO, D.C.S.N. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses from Northern Brazil. **Small Ruminant Research**, v.94, n.1-3, p.205-209, 2010.

FEITOSA, A.L.V.L.; TEIXEIRA, M.F.S.; PINHEIRO, R.R.; PINHEIRO, A.A.; AZEVEDO, D.A.A.; ALVES, S.M. Primeiro isolamento de lentivírus de pequenos ruminantes em caprino naturalmente infectado em rebanho do Rio Grande do Norte, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.4, p.501-505, 2011.

FEITOSA, F.L.F. Importância da transferência da imunidade passiva para a sobrevivência de bezerros neonatos. **Revista de Educação Continuada CRMV-SP**, v.2, n.3, p.17-22, 1999.

FEITOSA, F.L.F.; BIRGEL, E.H.; MIRANDOLA, R.M.S.; PERRI, S.H.V. Diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva em bezerros através da determinação de proteína total e de suas frações eletroforéticas, imunoglobulinas G e M e da atividade da gama glutamiltransferase no soro sanguíneo. **Ciência Rural**, v.31, n.2, p.251-255, 2001.

FÉRES, F.C.; LOMBARDI, A.L.; BARBOSA, T.S.; MENDES, L.C.N.; PEIRÓ, J.R.; CADIOLI, F.A.; PERRI, S.H.V.; FEITOSA, F.L.F. Avaliação da transferência de imunidade passiva em cordeiros com até 30 dias de idade. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.47, n.3, p.231-236, 2010.

FERNANDES, M.A.; ARAÚJO, W.P.; CASTRO, R.S. Prevalência da infecção pelo vírus Maedi-Visna em ovinos da microrregião da grande São Paulo, Estado de São Paulo. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v.6, n.1, p.23-28, 2003.

FITTERMAN, I.R. Constatação do complexo artrite-encefalite em um plantel de caprinos no Estado da Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 1988, Salvador. **Anais...** 1988, p.93.

FRAS, M.; LEBOEUF, A.; LABRIE, F.M.; LAURIN, M.A.; SOHAL, J.S.; L'HOMME, Y. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses in mixed flocks: Multiple evidence of dual infection and natural transmission of types A2 and B1 between sheep and goats. **Infection, Genetics and Evolution**, v.19, p.97-104, 2013.

FROTA, M.N.L.; SILVA, J.B.A.; ARAÚJO, S.A.C.; TEIXEIRA, M.F.S. Artrite-encefalite caprina em cabritos de rebanhos com programas de controle no estado do Ceará. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.2, p.147-152, 2005.

GARCIA, M.; GALHARDO, M.; ARAÚJO, W.P.; D'ANGELINO, J.L.; BASTOS, P.S.; ROSSINI, A.J. Caprine arthritis-encephalitis (CAE). Occurrence of positive sera in

goats raised in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v.24, n.3, p.164, 1992.

GENDELMAN, H.E.; NARAYAN, O.; KENNEDY-STOSKOPF, S.; KENNEDY, P.G.E.; GHOTBI, Z.; CLEMENTS, J.E.; STANLEY, J.; PEZESHKPOUR, G. Tropism of sheep lentiviruses for monocytes: susceptibility to infection and virus gene expression increase during maturation of monocytes to macrophages. **Journal of Virology**, v.58, n.1, p.67-74, 1986.

GERMAIN, K.; VALAS, S. Distribution and heterogeneity of small ruminant lentivirus envelope subtypes in naturally infected sheep. **Virus Research**, v. 120, n.1-2, p. 156-162, 2006.

GIAMMARIOLI, M.; BAZZUCCHI, M.; PUGGIONI, G. Phylogenetic analysis of small ruminant lentivirus (SRLV) in Italian flocks reveals the existence of novel genetic subtypes. **Virus Genes**, v.43, n.3, p.380-384, 2011.

GJERSET, B.; JONASSEN, C.M.; RIMSTAD, E. Natural transmission and comparative analysis of small ruminant lentiviruses in the Norwegian sheep and goat populations. **Virus Research**, v.125, n.2, p.153-161, 2007.

GJERSET, B.; RIMSTAD, E.; TEIGE, J.; SOETAERT, K.; JONASSEN, C.M. Impact of natural sheep-goat transmission on detection and control of small ruminant lentivirus group C infections. **Veterinary Microbiology**, v.135, n.3-4, p.231-238, 2009.

GLARIA, I.; REINA, R.; CRESPO, H.; DE ANDRÉS, X.; RAMÍREZ, H.; BIESCAS, E.; PÉREZ, M.M.; BADIOLA, J.; LUJÁN, L.; AMORENA, B.; DE ANDRÉS, D. Phylogenetic analysis of SRLV sequences from an arthritic sheep outbreak demonstrates the introduction of CAEV-like viruses among Spanish sheep. **Veterinary Microbiology**, v.138, n.1-2, p.156-162, 2009.

GOUVEIA, A.M.G.; LIMA, F.A.; ABREU, C.P.; LOBATO, Z.I.P.; YORINORI, E.H.; CYPRESTE, B.M. Lentivirose de pequenos ruminantes em ovinos e caprinos em Minas Gerais. In: XI CONGRESSO LATINOAMERICANO, V CONGRESSO BRASILEIRO, III CONGRESSO NORDESTINO DE BUIATRIA, 2003, Salvador. **Anais...** 2003a, p.52.

GOUVEIA, A.M.G.; LIMA, F.A.; SOUSA, G.J.G.; LOBATO, Z.I.P.; SILVA, A.H.; SILVA, M.A.V.; CYPRESTE, B.M. Frequência sorológica de Maedi-Visna, Língua

Azul em ovinos, em propriedades e matadouro da Paraíba. In: XI CONGRESSO LATINOAMERICANO, V CONGRESSO BRASILEIRO, III CONGRESSO NORDESTINO DE BUIATRIA, 2003, Salvador. **Anais...** 2003b, p.52.

GREGO, E.; PROFITI, M.; GIAMMARIOLI, M.; GIANNINO, L.; RUTILI, D.; WOODALL, C.; ROSATI, S. Genetic heterogeneity of small ruminant lentiviruses involves immunodominant epitope of capsid antigen and affects sensitivity of single-strain-based immunoassay. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.9, n.4, p.828-832, 2002.

GREGO, E.; BERTOLOTTI, L.; QUASSO, A.; PROFITI, M.; LACERENZA, D.; MUZ, D.; ROSATI, S. Genetic characterization of small ruminant lentivirus in italian mixed flocks: evidence for a novel genotype circulating in a local goat population. **Journal of General Virology**, v.88, n.12, p.3423-3427, 2007.

GREGORY, L.; BIRGEL JÚNIOR, E.H.; LARA, M.C.C.S.H.; ANGELINI, M.; ARAÚJO, W.P.; RIZZO, H.; MAIORKA, P.C.; CASTRO, R.S.; KIRALY, A.C.M.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H. Clinical features of indurative mastitis caused by caprine arthritis encephalitis virus. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v.2, n.2, p.64-68, 2009a.

GREGORY, L.; LARA, M.C.C.S.H.; VILLALOBOS, E.M.C.; HASEGAWA, M.Y.; CASTRO, R.S.; RODRIGUES, J.N.M.; ARAÚJO, J.; KELLER, L.W.; DURIGON, E.L. Detecção do vírus da artrite encefalite caprina em amostras de leite de cabras pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e nested-PCR. **ARS Veterinária**, v.25, n.3, p.142-146, 2009b.

GREGORY, L.; LARA, M.C.C.S.H.; HASEGAWA, M.Y.; CASTRO, R.S.; FATINI, L.C.; GAETA, N.C.; RODRIGUES, J.N.M.; ARAÚJO, J.; KELLER, L.W.; DURIGON, E.L. Detecção do vírus da artrite encefalite caprina em pulmão, glândula mamária, cérebro e líquido sinovial de cabras naturalmente infectadas pela técnica de nested-PCR. **Medicina Veterinária**, v.5, n.1, p.7-11, 2011a.

GREGORY, L.; LARA, M.C.C.S.H.; HASEGAWA, M.Y.; CASTRO, R.S.; RODRIGUES, J.N.M.; ARAÚJO, J.; KELLER, L.W.; SILVA, L.K.F.; DURIGON, E.L. Detecção do vírus da artrite-encefalite caprina no sêmen através das técnicas de PCR e Nested-PCR. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.4, p.599-603, 2011b.

GRIMBERG, J.; NOWOSCHIK, S.; BELLUSCIO, L.; MCKEE, R.; TURCK, A.; EISENBERG, A. A simple and efficient non-organic procedure for the isolation of genomic DNA from blood. **Nucleic Acids Research**, v.17, n.20, p.83-90, 1989.

GUFLER, H.; GASTEINER, J.; LOMBARDO, D.; STIFTER, E.; KRASSNIG, R.; BAUMGARTNER. Serological study of small ruminant lentivirus in goats in Italy. **Small Ruminant Research**, v.73, n.1, p.169-173, 2007.

HALL, T.A. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v.41, p.95-98, 1999.

HERRMANN-HOESING, L.M.; PALMER, G.H.; KNOWLES, D.P. Evidence of proviral clearance following postpartum transmission of an ovine lentivirus. **Virology**, v.362, n.1, p.226-234, 2007.

HÖTZEL, I.; BASTOS, S.E.; RAVAZZOLO, A.P.; MOOJEN, V. Caprine arthritis-encephalitis virus: isolation and identification in Rio Grande do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.26, n.11, p.1175-1179, 1993.

HURLEY, W.L.; THEIL, P.K. Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. **Nutrients**, v.3, n.4, p.442-474, 2011.

KARANIKOLAU, K.; ANGELOPOULOU, K.; PAPANASTASOPOULOU, M.; KOUMPATI-ARTOPIOU, M.; PAPADOPOULOS, O.; KOPTOPOULOS, G. Detection of small ruminant lentiviruses by PCR and serology tests in field samples of animals from Greece. **Small Ruminant Research**, v.58, n.2, p.181-187, 2005.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v.16, n.2, p.111-120, 1980.

KNOWLES JR., D.P.; EVERMANN, J.F.; SHROPSHIRE, C.; VANDERSCHALIE, J.; BRADWAY, D.; GEZON, H.M.; CHEEVERS, W.P. Evaluation on Agar Gel Immunodiffusion Serology Using Caprine and Ovine Lentiviral Antigens for Detection of Antibody to Caprine Arthritis-Encephalitis Virus. **Journal of Clinical Microbiology**, v.32, n.1, p.243-245, 1994.

KONISHI, M.; NAGURA, Y.; TAKEI, N.; FUJITA, M.; HAYASHI, K.; TSUKIOKA, M.; YAMAMOTO, T.; KAMEYAMA, K.; SENTSU, H.; MURAKAMI, K. Combined eradication strategy for CAE in dairy goat farm in Japan. **Small Ruminant Research**, v.99, n.1, p.65-71, 2011.

KUHAR, U.; BARLIC-MAGANJA, D.; GROM, J. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses detected in Slovenia. **Veterinary Microbiology**, v.162, n.1, p.201-206, 2013.

LAAMANEN, I.; JAKAVA-VILJANEN, M.; SIHVONEN, L. Genetic characterization of maedi-visna virus (MVV) detected in Finland. **Veterinary Microbiology**, v.122, n.3-4, p.357-365, 2007.

LABTEST DIAGNÓSTICA. **Guia Técnico – Bioquímica**. Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil. Disponível em: <<http://www.labtest.com.br/publicacoes/publicacoeslabtest>>. Acesso em: 19 dez 2013.

LARA, M.C.C.S.H.; BIRGEL JÚNIOR, E.H.; REISCHAK, D.; MOOJEN, V.; GREGORY, L.; OLIVEIRA, J.C.F.; BIRGEL, E.H. Identificação imuno-sorológica de anticorpos anti-vírus da artrite-encefalite dos caprinos: comparação das técnicas de imunodifusão em gel de ágar, ensaio imunoenzimático e imunofluorescência indireta. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.69, n.4, p.1-5, 2002.

LARA, M.C.C.S.H.; BIRGEL JÚNIOR, E.H.; FERNANDES, M.A.; BIRGEL, E.H. Infecção experimental do vírus da artrite-encefalite dos caprinos em cabritos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, n.1, p.51-54, 2003.

LARA, M.C.C.S.H.; BIRGEL JÚNIOR, E.H.; GREGORY, L.; BIRGEL, E.H. Aspectos clínicos da artrite-encefalite dos caprinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.6, p.736-740, 2005a.

LARA, M.C.C.S.H.; BIRGEL JÚNIOR, E.H.; BIRGEL, E.H. Possibility of vertical transmission of caprine arthritis-encephalitis virus in neonate kids. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.4, p.553-555, 2005b.

LARA, M.C.C.S.H.; CARDOSO, M.V.; VILLALOBOS, E.M.C.; CUNHA, E.M.S.; PAULIN, L.M.; CASTRO, V.; PIATTI, R.M.; NASSAR, A.F.C.; PITUCO, E.M.; NOGUEIRA, A.H.C.; GABRIEL, F.; CHIEBAO, D.P.; OKUDA, L.H. Ocorrência de

lentivirose (CAE e Maedi-Visna) em pequenos ruminantes criados na região sudoeste do estado de São Paulo. In: 6ª FEIRA INTERNACIONAL DE CAPRINOS E OVINOS, 2009, São Paulo. **Anais...** 2009 (CD).

LEITE, B.L.S.; MODOLO, J.R.; PADOVANI, C.R.; STACCHINI, A.V.M.; CASTRO, R.S.; SIMÕES, L.B. Avaliação da taxa de ocorrência da artrite-encefalite caprina a vírus pelas regionais do escritório de defesa agropecuária do estado de São Paulo, Brasil, e seu mapeamento por meio de sistema de informações geográficas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, n.1, p.21-26, 2004.

LEROUX, C.; VUILLERMOZ, S.; MORNEX, J.F.; GREENLAND, T. Genomic heterogeneity in the *pol* region of ovine lentiviruses obtained from bronchoalveolar cells of infected sheep from France. **Journal of General Virology**, v.76, n.6, p.1533-1537, 1995.

LEROUX, C.; CHASTANG, J.; GREENLAND, T.; MORNEX, J.F. Genomic heterogeneity of small ruminant lentiviruses: existence of heterogeneous populations in sheep and of the same lentiviral genotypes in sheep and goats. **Archives of Virology**, v.142, n.6, p.1125-1137, 1997.

LEROUX, C.; MORNEX, J.F. Retroviral infections in sheep and the associated diseases. **Small Ruminant Research**, v.76, n.1-2, p.68-76, 2008.

LEROUX, C.; CRUZ, J.C.M.; MORNEX, J.F. SRLVs: A genetic continuum of lentiviral species in sheep and goats with cumulative evidence of cross species transmission. **Current HIV Research**, v.98, n.1, p.94-100, 2010.

L'HOMME, Y.; OUARDANI, M.; LÉVESQUE, V.; BERTONI, G.; SIMARD, C.; PISONI, G. Molecular characterization and phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses isolated from Canadian sheep and goat. **Virology Journal**, v.8, n.271, p.1-7, 2011.

LILENBAUM, W.; SOUZA, G.N.; RISTOW, P.; MOREIRA, M.C.; FRÁGUAS, S.; CARDOSO, V.S.; OELEMANN, W.M.R. A serological study on *Brucella abortus*, caprine arthritis-encephalitis virus and *Leptospira* in dairy goats in Rio de Janeiro, Brazil. **The Veterinary Journal**, v.173, n.2, p.408-412, 2007.

LIMA, C.C.V.; COSTA, J.N.; SOUZA, T.S.; MARTINEZ, P.M.; COSTA NETO, A.O.; ANUNCIAÇÃO, A.V.M.; ALMEIDA, M.G.A.R.; ARAÚJO, B.R.; PINHEIRO, R.R. Inquérito soropidemiológico do lentivírus caprino e perfil das criações de caprinos na região do Baixo Médio São Francisco (BA). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.80, n.3, p.288-296, 2013a.

LIMA, C.C.V.; COSTA, J.N.; SOUZA, T.S.; MARTINEZ, P.M.; COSTA NETO, A.O.; AZEVEDO, D.A.A.; PINHEIRO, R.R.; BRITO, R.L.L. Imunodiagnóstico para a artrite-encefalite caprina em rebanhos do semiárido baiano, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, n.4, p.358-364, 2013b.

LOMBARDI, A.L.; NOGUEIRA, A.H.C.; FERES, F.C.; PAULO, H.P.; CASTRO, R.S.; FEITOSA, F.L.F.; CADIOLI, F.A.; PEIRÓ, J.R.; PERRI, S.H.V.; LIMA, V.F.M.; MENDES, L.C.N. Soroprevalência de maedi-visna em ovinos na região de Araçatuba, SP. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.6, p.1434-1437, 2009.

LÓPEZ, G.A.; RODRÍGUEZ, H.A.M.; PÉREZ, J.T. Detection of antibodies against small ruminant lentiviruses in ovine and caprine fetuses. **Veterinária México**, v.43, n.1, p.9-15, 2012.

MADUREIRA, K.M.; GOMES, V. Prevalência da artrite encefalite caprina (CAE) em propriedades leiteiras do Estado de São Paulo. Disponível em: <<http://www.unifian.edu.br>> Acesso em 20 ago. 2008.

MARTINEZ, P.M.; COSTA, J.N.; SOUZA, T.S.; COSTA NETO, A.O.; PINHEIRO, R.R. Sistemas de criação de ovinos e ocorrência de anticorpos contra o vírus da Maedi-Visna na Microrregião de Juazeiro – Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, n.2, p.342-353, 2010.

MARTINEZ, P.M.; COSTA, J.N.; SOUZA, T.S.; LIMA, C.C.V.; COSTA NETO, A.O.; PINHEIRO, R.R. Prevalência sorológica da maedi-visna em rebanhos ovinos da Microrregião de Juazeiro – Bahia por meio do teste de imunodifusão em gel de ágar. **Ciência Animal Brasileira**, v.12, n.2, p. 322-329, 2011.

MELO, A.C.M.; FRANKE, C.R. Soroprevalência da infecção pelo vírus da artrite-encefalite caprina (CAEV) no rebanho de caprinos leiteiros da Região da Grande Fortaleza, Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v. 27, n. 1, p.113-117, 1997.

MELO, C.B.; CASTRO, R.S.; OLIVEIRA, A.A.; FONTES, L.B.; CALLADO, A.K.; NASCIMENTO, S.A.; MELO, L.E.H.; SILVA, J.S. Estudo preliminar sobre a infecção por lentivírus de pequenos ruminantes em ovinos e caprinos em Sergipe. In: XI CONGRESSO LATINOAMERICANO, V CONGRESSO BRASILEIRO, III CONGRESSO NORDESTINO DE BUIATRIA, 2003, Salvador. **Anais...** 2003, p.47.

MILCZEWSKI, V.; SOTOMAIOR, C.; REISCHAK, D.; VON GROLL, A. Relato do primeiro isolamento do vírus Maedi-Visna no Estado do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Gramado. **Anais...** 1997, p.179.

MODOLO, J.R.; STACCHISSINI, A.V.M.; PADOVANI, C.R.; ARAÚJO JÚNIOR, J.P.; CASTRO, R.S.; RAVAZZOLO, A.P.; LEITE, B.L.S. PCR associated with agar gel immunodiffusion assay improve caprine arthritis-encephalitis (CAEV) control. **Small Ruminant Research**, v.81, n.1, p.18-20, 2009.

MOOJEN, V.; SOARES, H.C.; RAVAZZOLO, A.P.; DAL PIZZOL, M.; GOMES, M. Evidência de infecção pelo lentivírus (maedi-visna/artrite-encefalite caprina) em caprinos no Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.14, p.77-78, 1986.

MOOJEN, V.; BARTH, O.M.; RAVAZZOLO, A.P.; VON GROLL, A.; CORTES, L.M.; MARCHESIN, D.M. Maedi-Visna Virus: first isolation and identification from naturally infected lamb in Brazil. In: CONGRESSO ARGENTINO DE VIROLOGIA, Tandil, Argentina. **Anais...** 1996, p.89.

MOOJEN, V. Maedi-visna dos ovinos. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MENDEZ, M.D.C.; LEMOS, R.A.A. **Doenças de Ruminantes e Equinos**. 2. ed. São Paulo: Varela, São Paulo, 2001, p.138-144.

MOREIRA, M.C.; OELEMANN, W.M.R.; LILENBAUM, W. Dados sorológicos da artrite-encefalite caprina no estado do Rio de Janeiro (BR) e avaliação do uso do índice clínico como ferramenta de diagnóstico. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.29, n.2, p.51-53, 2007.

MSELLI-LAKHAL, L.; FAVIER, C.; LEUNG, K.; GUIGUEN, F.; GREZEL, D.; MIOSSEC, P.; MORNEX, J.F.; NARAYAN, O.; QUERAT, G.; CHEBLOUNE, Y. Lack of functional receptors is the only barrier that prevents caprine arthritis-encephalitis virus from infecting human cells. **Journal of Virology**, v.74, n.18, p.8343-8348, 2000.

NÓBREGA JÚNIOR, J.E.; RIET-CORREA, F.; NÓBREGA, R.S.; MEDEIROS, J.M.; VASCONCELOS, J.S.; SIMÕES, S.V.; TABOSA, I.M. Mortalidade perinatal de cordeiros no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.3, p.171-178, 2005.

OIE. World Organisation for Animal Health. The World Animal Health Information Database (WAHID). Disponível em: <www.oie.int>. Acesso em: 13 jun. 2014.

OLECH, M.; RACHID, A.; CROISÉ, B.; KUZMAK, J.; VALAS, S. Genetic and antigenic characterization of small ruminant lentiviruses circulating in Poland. **Virus Research**, v.163, n.2, p.528-536, 2012.

OLIVEIRA, M.M.M.; CASTRO, R.S.; CARNEIRO, K.L.; NASCIMENTO, S.A.; CALLADO, A.K.C.; ALENCAR, C.S.A.; COSTA, L.S.P. Anticorpos contra lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos e ovinos em abatedouros do estado de Pernambuco. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.945-949, 2006a.

OLIVEIRA, B.F.L.; BERGAMASCHI, K.B.; CRUZ, M.H.C.; SANTOS, D.D.; CRUZ, A.D.; CRUZ, J.F. Prevalência de lentivirose em rebanhos caprinos e ovinos na região sudoeste da Bahia. In: XII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UESC, 2006, Ilhéus. **Anais...** 2006b, p.134-135.

OLIVEIRA, M.M.M.; MELO, M.A.; ANDRADE, P.P.; GOMES, S.M.; CAMPOS, A.C.; NASCIMENTO, S.A.; CASTRO, R.S. Western Blot para o diagnóstico das infecções pelos lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos: um método simples para a produção de antígeno. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, n.3, p.263-270, 2008.

OLIVER, R.E.; MCNIVEN, R.A.; JULIAN, A.F.; POOLE, W.S. Experimental infection of sheep and goats with caprine arthritis-encephalitis virus. **New Zealand Veterinary Journal**, v.30, p.158-159, 1982.

OLIVER, R.; CATHCART, A.; MCNIVEN, R.; POOLE, W.; ROBATI, G. Transmission of caprine arthritis encephalitis virus to sheep. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 32, p.199-200, 1984.

PASICK, J. Maedi-Visna Vírus and Caprine Arthritis-Encephalitis Vírus: Distinct espécies or quasispecies and its implications for laboratory diagnosis. **Canadian Journal of Veterinary Research**, n.62, p. 241-244, 1998.

PAULA, N.R.O.; ANDRIOLI, A.; CARDOSO, J.F.S.; PINHEIRO, R.R.; SOUSA, F.M.L.; SOUZA, K.C.; ALVES, F.S.F.; CAMPELLO, C.C.; RICARTE, A.R.F.; TEIXEIRA, M.F.S. Profile of the Caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in blood, semen from bucks naturally and experimentally infected in the semi-arid region of Brazil. **Small Ruminant Research**, v.85, n.1, p.27-33, 2009.

PAULETTI, P.; MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; BESSI, R. Avaliação de níveis séricos de imunoglobulina, proteína e o desempenho de bezerras da raça Holandesa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.1, p.89-94, 2002.

PÉREZ, M.; BIESCAS, E.; REINA, R.; GLARIA, I.; MARÍN, B.; MARQUINA, A.; SALAZAR, E.; ÁLVAREZ, N.; DE ANDRÉS, D.; FANTOVA, E.; BADIOLA, J.J.; AMORENA, B.; LUJÁN, L. Small ruminant lentivirus-induced arthritis: clinicopathologic findings in sheep infected by highly replicative SRLV B2 genotype. **Veterinary Pathology Online**. Jan. 2014. Disponível em: <<http://vet.sagepub.com/content/early/2014/01/29/0300985813519654>>. Acesso em: 29 mai. 2014.

PETERHANS, E.; GREENLAND, T.; BADIOLA, J.; HARKISS, G.; BERTONI, G.; AMORENA, B.; ELIASZEWICZ, M.; JUSTE, R.; KRAßNIG, R.; LAFONT, J.; LENIHAN, P.; PÉTURSSON, G.; PRITCHARD, G.; THORLEY, J.; VITU, C.; MORNEX, J.; PÉPIN, M. Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. **Veterinary Research**, v.35, n.3, p. 257-274, 2004.

PINHEIRO, R.R.; ALVES, F.S.F.; GIRÃO, E.S.; MEDEIROS, L.P; GIRÃO, R.N.

Presença da artrite encefalite caprina a vírus (CAEV) em Teresina-PI. In: XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 1996. Goiânia.

Anais... Goiânia: Sociedade Goiana de Medicina Veterinária, 1996a, p.161.

PINHEIRO, R.R.; ALVES, F.S F.; SANTA ROSA, J.; GOUVEIA, A.M.G.

Levantamento sorológico em ovinos para diagnóstico da Maedi-Visna em Sobral-Ceará. In: XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 1996, Goiânia. **Anais...** 1996b, p.161.

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F. Prevalência da infecção pelo vírus da Artrite-Encefalite Caprina no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v.31, n.3, p.449-454, 2001.

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F.; ANDRIOLI, A. Perfil de propriedades no estado do Ceará relacionando à presença do lentivírus caprino. **Ciência Animal**, v.14, n.1, p.29-37, 2004.

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; YORINORI, E.H.; ANDRIOLI, A. Comparação de três técnicas de produção do antígeno do lentivírus caprino utilizado no teste de imunodifusão em gel de ágar. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.42, n.6, p.453-458, 2005.

PINHEIRO, R.R.; OLORTEGUI, C.D.C.; GOUVEIA, A.M.G.; ARAÚJO, S.C.; ANDRIOLI, A. Desenvolvimento de dot-blot para detecção de anticorpos para o vírus da artrite-encefalite caprina em caprinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.101, n.557-558, p.51-56, 2006.

PINHEIRO, R.R.; ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G.; ARAGÃO, M.A.C.; MARTINEZ, P.M. Avaliação de antígenos para o diagnóstico de lentivírus em rebanho caprino sob programa de controle. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.1, p.133-137, 2010.

PINHEIRO, R.R.; BRITO, R.L.L.; RODRIGUES, A.S.; DIAS, R.P.; ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G. Protocolo de immunoblotting para diagnóstico da artrite-encefalite caprina. In:____ **Comunicado Técnico 122**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2011. 4p.

PINHEIRO, R.R.; ANDRIOLI, A.; SIDER, L.H.; SANTIAGO, L.B.; OLIVEIRA, E.L.; SOUSA, A.L.M.; ALVES, F.S.F.; CRUZ, J.C.M. Lentivirose em Pequenos Ruminantes: Principais Métodos de Diagnóstico. In:____**Documentos 107**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2012. 42p.

PISONI, G.; QUASSO, A.; MORONI, P. Phylogenetic analysis of small-ruminant lentiviruses subtype B1 in mixed flocks: Evidence for natural transmission from goats to sheep. **Virology**, v.339, n.2, p.147-152, 2005.

PISONI, G.; BERTONI, G.; PURICELLI, M.; MACCALLI, M.; MORONI, P. Demonstration of coinfection with and recombination by caprine arthritis-encephalitis virus and maedi-visna virus in naturally infected goats. **Journal of Virology**, v.81, n.10, p.4948-4955, 2007.

PISONI, G.; BERTONI, G.; MANAROLLA G.; VOGT, H.R.; SCACCABAROZZI, L.; LOCATELLI, C.; MORONI, P. Genetic analysis of small ruminant lentiviruses following lactogenic transmission. **Virology**, v.407, n.1, p.91–99, 2010.

PREZIUSO, S.; RENZONI, G.; ALLEN, T.E.; TACCINI, E.; ROSSI, G.; DEMARTINI, J.C.; BRACA, G. Colostral transmission of Maedi-visna virus: sites of viral entry in lambs born from experimentally infected ewes. **Veterinary Microbiology**, v.104, n.3-4, p.157-164, 2004.

PUGH, D.G. **Clínica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. 513p.

RACHID, A.; CROISÉ, B.; RUSSO, P.; VIGNONI, M.; LACERENZA, D.; ROSATI, S.; KUZMAK, J.; VALAS, S. Diverse host-virus interactions following caprine arthritis-encephalitis virus infection in sheep and goats. **Journal of General Virology**, v.94, n.3, p.634-642, 2013.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica Veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.

RAMALHO, E.J. **Artrite-encefalite caprina – CAE: prevalência de anticorpos séricos em caprinos no Estado da Bahia**. 2000. 109f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

- RAMOS, O.S.; SILVA, A.C.S; MONTENEGRO, A.J.D.; FREITAS, J.A.; WATANABE, N. A. Anticorpos para o Vírus da Artrite Encefálica no município de Castanhal – Pará. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 26, p. 107-111, 1996.
- RAVAZZOLO, A.P.; REISCHAK, D.; PETERHANS, E.; ZANONI, R. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses from Southern Brazil. **Virus Research**, v.79, n.1-2, p.117-123, 2001.
- RAVAZZOLO, A.P.; NENCI, C.; VOGT, H.R.; WALDVOGEL, A.; OBEXER-RUFF, G.; PETERHANS, E.; BERTONI, G. Viral load, organ distribution, histopathological lesions and cytokine mRNA expression in goats infected with a molecular clone of the caprine arthritis encephalitis virus. **Virology**, v. 350, n.1, p.116-127, 2006.
- REINA, R.; MORA, M.I.; GLARIA, I.; GARCÍA, I.; SOLANO, C.; LUJÁN, L.; BADIOLA, J.J.; CONTRERAS, A.; BERRIATUA, E.; JUSTE, R. MAMOUN, R.Z.; ROLLAND, M.; AMORENA, B.; DE ANDRÉS, D. Molecular characterization and phylogenetic study of Maedi Visna and Caprine Arthritis Encephalitis viral sequences in sheep and goats from Spain. **Virus Research**, v.121, n.2, p.189-198, 2006.
- 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**, v.182, n.1, p.31-37, 2009a.
- REINA, R.; GREGO, E.; PROFITI, M.; GLARIA, I.; ROBINO, P.; QUASSO, A.; AMORENA, B.; ROSATI, S. Development of specific diagnostic test for small ruminant lentivirus genotype E. **Veterinary Microbiology**, v.138, n.3-4, p.251-257, 2009b.
- REINA, R.; BERTOLOTTI, L.; GIUDICI, S.D.; PUGGIONI, G.; PONTI, N.; PROFITI, M.; PATTA, C.; ROSATI, S. Small ruminant lentivirus genotype E is widespread in Sarda goat. **Veterinary Microbiology**, v.144, n.1-2, p.24-31, 2010.
- REISCHAK, D.; WENDELSTEIN, A.C.; KORNDÖRFER, C.N.; DEZAN, C.P.; GUGLLELMI, V.O.; MOOJEN, V. Importância da escolha dos reagentes para o diagnóstico de infecção por lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos. **Veterinária Notícias**, v.8, n.2, p.51-56, 2002.

RICARTE, A.R.F.; ANDRIOLI, A.; PINHEIRO, R.R.; BÁO, S.N.; SILVA, J.S.; BRAZ, S.V.; NAME, K.P.O.; LIMA-VERDE, I.B.; BRITO, I.F.; DIAS, R.P.; FREITAS AGUIAR, T.D.; DANTAS, T.V.M.; ARAÚJO, S.A.C.; CAVALCANTI, D.M.L.P.; PAULA, N.R.O.; TEIXEIRA, M.F.S. Avaliação imunohistoquímica e ultraestrutural de gametas e embriões caprinos infectados com o CAEV. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.2, p.217-223, 2010.

RIMSTAD, E.; EAST, N.E.; TORTEN, M.; HIGGINS, J.; DEROCK, E.; PEDERSEN, N.C. Delayed seroconversion following naturally acquired caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats. **American Journal of Veterinary Research**, v.54, n.11, p.1858-1862, 1993.

ROBLES, C.A.; LAYANA, J.A.; CABRERA, R.F.; RAFFO, F.; CUTLIP, R. Estudio serológico retrospectivo de Maedi (Neumonía Progresiva) em ovinos y de Artritis-Encefalitis em Caprinos de Patagonia, Argentina. **Revista de Medicina Veterinária**, v.84, n.3, p.96-99, 2003.

RODRIGUES, A.S.; BRITO, R.L.L.; PINHEIRO, R.R.; DIAS, R.P.; ALVES, S.M.; SOUZA, T.S.; SOUZA, K.C.; AZEVEDO, D.A.A.; ANDRIOLI, A.; MAGALHÃES, D.C.T.; TEIXEIRA, M.F.S. Padronização do ELISA indireto e Western Blot para o diagnóstico da artrite-encefalite caprina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.2, p.417-424, 2014.

ROLLAND, M.; MOONEY, J.; VALAS, S.; PERRIN, G.; MAMOUN, R.Z. Characterisation of an Irish caprine lentivirus strain – SRLV phylogeny revisited. **Virus Research**, v.85, n.1, p.29-39, 2002.

ROSA, E.P.; AMORIM, R.M.; FERREIRA, D.O.L.; CHIACCHIO, S.B.; MODULO, J.R. Soroprevalência da pneumonia progressiva ovina (maedi-visna) na região de Botucatu, SP. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.3, p.847-852, 2009.

SALABERRY, S.R.S.; LARA, M.C.C.S.H.; PIATTI, R.M.; NASSAR, A.F.C.; CASTRO, J.R.; GUIMARÃES, E.C.; LIMA-RIBEIRO, A.M.C. Prevalência de anticorpos contra os agentes da maedi-visna e clamidofilose em ovinos no município de Uberlândia, MG. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.3, p.411-417, 2010.

SALTARELLI, M.; QUERAT, G.; KONINGS, D.A.M.; VIGNE, R.; CLEMENTS, J.E. Nucleotide sequence and transcriptional analysis of molecular clones of CAEV which generate infectious virus. **Virology**, v.179, n.1, p.347-364, 1990.

SAMPAIO JÚNIOR, A.; BATISTA, M.C.S.; CRUZ, M.S.P.; SILVA, R.A.B.; BONA NASCIMENTO, C.; WERNECK, G.L. Prevalência da infecção por lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos em Teresina, Piauí. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.3, p.757-760, 2011.

SANTIN, A.P.I.; BRITO, W.M.E.D.; REISCHAK, D.; BRITO, L.A.B. Artrite encefalite caprina: identificação de animais soropositivos no estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v.3, n.1, p.67-71, 2002.

SANTOS, B.P. **Influência do vírus da artrite encefalite caprina no imunograma sanguíneo e lácteo de cabras naturalmente infectadas**. 2012. 104f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

SARAIVA NETO, A.O.; CASTRO, R.S.; BIRGEL, E.H.; NASCIMENTO, S.A. Estudo soro-epidemiológico da artrite-encefalite caprina em Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.15, p.121-124, 1995.

SARDI, S.I.; SENA, G.S.R.; CAMPOS, G.S.; SANTOS, G.R.; MAIA NETO, A.L.; AVILA, L.N. Ocorrência de lentivírus de pequenos ruminantes no semiárido baiano e perfil da caprino/ovinocultura na região. **Ciência Animal Brasileira**, v.13, n.4, p.494-503, 2012a.

SARDI, S.I.; TORRES, J.A.; BRANDÃO, C.F.L.; TIGRE, D.M.; CAMPOS, G.S. Early detection of goats infected with lentivirus small ruminant virus by ELISA assay. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.11, n.1, p.35-40, 2012b.

SELL, B.E. **Prevalência de anticorpos para o vírus da artrite-encefalite caprina em soros de caprinos no estado de Santa Catarina**. 2000, 24p. Monografia (Pós-Graduação) – Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, Santa Catarina, 2000.

SHAH, C.A.; BÖNI, J.; HUDER, J.B.; VOGT, H.R.; MÜHLLHER, J.; ZANONI, R.; MISEREZ, R.; LUTZ, H.; SCHÜPBACH, J. Phylogenetic analysis and reclassification

of caprine and ovine lentiviruses based on 104 new isolates: evidence for regular sheep-to-goat transmission and world-wide propagation through livestock trade. **Virology**, v.319, n.1, p.12-26, 2004a.

SHAH, C.; HUDER, J.B.; BÖNI, J.; SCHÖNMANN, M.; MÜHLHERR, J.; LUTZ, H.; SCHÜPBACH, J. Direct evidence for natural transmission of small-ruminant Lentiviruses of subtype A4 from goat to sheep and vice versa. **Journal of Virology**, v.78, n.14, p.7518-7522, 2004b.

SILVA, D.F.M.; COSTA, J.N.; ARAÚJO, A.L.; COSTA NETO, A.O.; ALMEIDA, M.A.O.; CARVALHO, V.S. Proteinograma sérico de cordeiros mestiços (Santa Inês X Dorper) do nascimento até o desmame: efeito do desenvolvimento etário e do monitoramento da ingestão do colostro. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.4, p.794-805, 2010.

SILVA, J.B.A. **Levantamento sorológico pelo teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA) da lentivirose ovina em rebanhos do Rio Grande do Norte, Brasil**. 2003. 60f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.

SILVA, J.S.; CASTRO, R.S.; MELO, C.B.; FEIJÓ, F.M.C. Infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina no Rio Grande do Norte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.6, p.726-731, 2005.

SILVA, S.L.; FAGLIARI, J.J.; BAROZA, P.F.J.; CESCO, F.T.R.S.; JORGE, R.L.N. Avaliação da imunidade passiva em caprinos recém-nascidos alimentados com colostro de cabras ou colostro de vacas. **ARS Veterinária**, v.23, n.2, p.81-88, 2007.

SIMÕES, S.V.D.; COSTA, R.G.; SOUZA, P.M.; MEDEIROS, A.N.; VILAR, A.L.T. Imunidade passiva, morbidade neonatal e desempenho de cabritos em diferentes manejos de colostro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.4, p.219-224, 2005.

SOBRINHO, P.A.M.; FERNANDES, C.H.C.; RAMOS, T.R.R.; CAMPOS, A.C.; COSTA, L.M.; CASTRO, R.S. Prevalência e fatores associados à infecção por lentivírus de pequenos ruminantes em ovinos no estado do Tocantins. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v.11, n.2/3, p.65-72, 2008.

SOBRINHO, P.A.M.; RAMOS, T.R.R.; FERNANDES, C.H.C.; CAMPOS, A.C.; COSTA, L.M.; CASTRO, R.S. Prevalência e fatores associados à infecção por

lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos no estado do Tocantins. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.1, p.117-124, 2010.

SOUZA, K.C.; PINHEIRO, R.R.; SANTOS, D.O.; BRITO, R.L.L.; RODRIGUES, A.S.; SIDER, L.H.; PAULA, N.R.O.; AVILA, A.A.; CARDOSO, J.F.S.; ANDRIOLI, A. Transmission of the caprine arthritis-encephalitis virus through artificial insemination. **Small Ruminant Research**, v.109, n.2-3, p.193-198, 2013.

SOUZA, T.S.; COSTA, J.N.; MARTINEZ, P.M.; PINHEIRO, R.R. Estudo sorológico da Maedi-Visna pelo método da Imunodifusão em Gel de Ágar em rebanhos ovinos de Juazeiro, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.4, p.276-282, 2007.

SOUZA, T.S.; PINHEIRO, R.R.; LIMA, C.C.V.; COSTA, J.N. Transmissão interespecie dos lentivírus de pequenos ruminantes: revisão e desafios. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n.1, p.23-34, 2012.

STRAUB, O.C. Maedi-Visna virus infection in sheep. History and present knowledge. **Comparative Immunology Microbiology & Infectious Diseases**, v.27, n.1, p.1-5, 2004.

TAMURA, K.; NEI, M.; KUMAR, S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. **Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)**, v.101, n.30, p.11030-11035, 2004.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution**, v.28, n.10, p.2731-2739, 2011.

TESORO-CRUZ, E.; FERIA-ROMERO, I.A.; OROZCO-SUÁREZ, S.; HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, R.; SILVA-GARCÍA, R.; VALLADARES-SALGADO, A.; BEKKER-MÉNDEZ, V. C.; BLANCO-FAVELA, F.; AGUILAR-SETIÉN, A. Frequency of the serological reactivity against the caprine arthritis encephalitis lentivirus gp135 in children who consume goat milk. **Archives of Medical Research**, v.40, n.3, p. 204-207, 2009.

THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v.22, n.22, p.4673-4680, 1994.

THORMAR, H.; HELGADOTTIR, H. A comparison of visna and maedi viruses. II. Serological relationships. **Research in Veterinary Science**, v. 6, p.456-465, 1965.

TIGRE, D.M.; CAMPOS, G.S.; SARDI, S.I. Isolamento e identificação do vírus da artrite encefalite caprina, a partir do co-cultivo de células mononucleares do sangue com células de membrana sinovial de cabra. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.5, n.2, p.124-131, 2006.

TORRES, J.A.; CAMPOS, G.S.; FREITAS, M.M.; BRANDÃO, C.F.L.; SARDI, S.I. Produção de antígeno viral para o diagnóstico da artrite-encefalite caprina utilizando um teste imunoenzimático (ELISA). **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.8, n.2, p.107-114, 2009.

VALAS, S.; BENOIT, C.; BAUDRY, C.; PERRIN, G.; MAMOUN, R.Z. Variability and immunogenicity of caprine arthritis-encephalitis virus surface glycoprotein. **Journal of Virology**, v.74, n.13, p.6178-6185, 2000.

VILLORIA, M.; LEGINAGOIKOA, I.; LUJÁN, L.; PÉREZ, M.; SALAZAR, E.; BERRIATUA, E.; JUSTE, R.A.; MINGUIJÓN, E. Detection of Small Ruminant Lentivirus in environmental samples of air and water. **Small Ruminant Research**, v.110, n.2-3, p.155-160, 2013.

YANAKA, R.; CAMARGO, D.G.; BOVINO, F.; SANTOS, W.A.; DÓCUSSE, M.R.; CAVASSANO, B.S.; FEITOSA, F.L.F. Período de absorção intestinal de macromoléculas em cabritos recém-nascidos após a ingestão de colostro bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.8, p.794-802, 2012.

YORINORI, E.H. **Região mineira do nordeste: características dos sistemas de produção de pequenos ruminantes domésticos e prevalências da artrite-encefalite caprina (CAE) e maedi-visna (MV) ovina, Minas Gerais**. 2001. 113f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ZANONI, R.G. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses. **Journal of General Virology**, v.79, p.1951-1961, 1998.