

Validação do teste zimográfico como complemento para o diagnóstico da Artrite Encefalite Caprina (CAE)

Nascimento, Danisvânia Ripardo^{1*}; Solon, Pedro Egberto²; Barroso, Maria Luane da Silva³; Pinheiro, Raimundo Rizaldo⁴; Eloy, Ângela Maria Xavier⁵

A artrite encefalite caprina (CAE) é uma virose disseminada nos rebanhos caprinos, assemelha-se ao vírus da imunodeficiência humana e não possui cura ou vacina. Um dos métodos para prevenção está no diagnóstico precoce com a utilização de testes como Western Blotting (WB) e Nested-PCR (nPCR). No entanto, estes testes podem apresentar resultados falsos negativos, pois o vírus possui alta taxa de mutação, além apresentar latência. Objetivou-se validar o teste zimográfico através das metaloproteinases-2 (MMP-2) e metaloproteinases-9 (MMP-9), em animais leiteiros do nordeste do Brasil através da comparação com o WB e nPCR. Foram coletados sangue de 10 animais da raça Sannen, dos quais foi extraído o soro sanguíneo para WB e zimografia e, produzida a papa de leucócitos para nPCR. A zimografia foi realizada em gel de poliacrilamida a 12,5% polimerizados com gelatina. Para WB o antígeno correu em SDS-PAGE. Após a corrida o antígeno foi transferido para uma membrana de nitrocelulose (MN), e exposta ao soro sanguíneo dos animais, a MN foi submetida a três lavagens (5min) com PBS-T 0,05% e PBS-1X, a revelação foi realizada com peróxido de hidrogênio a 30%. A nPCR foi realizada em dois ciclos contendo 545,25 µL de água Milli-Q, 75 µL de Tris HCL + KCL, 45 µL de MgCl₂, 15 µL do primers (1, 2, 3 e 4). Após os ciclos as amostras foram submetidas à corrida em gel de agarose a 1%. O teste WB indicou negatividade em todos os animais e o teste nPCR apontou que 50% dos animais eram positivos. Fazendo um comparativo, de acordo com a densitometria, no gel zimográfico a MMP-2 (64-66 kDa) foi estatisticamente ($P < 0,05$) mais intensa (pixels), apresentando maior atividade nos animais positivos na nPCR, a MMP-9 (80-84 kDa) não demonstrou alterações entre animais. Conclui-se que a MMP-2 pode ser utilizada como complemento de diagnóstico para a CAE, podendo vir a ser considerada como um biomarcador da infecção, havendo, no entanto, a necessidade de mais estudos. Além disso, os resultados indicaram que o WB mostrou baixa sensibilidade no diagnóstico da CAE.

Palavras-Chave: Western Blotting, MMP-2, MMP-9.

Suporte financeiro: Embrapa e CNPq

¹Aluna do Curso de graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA, Bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa

²Aluno do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário INTA - UNINTA, Bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa

³Aluna do Curso de pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA, Bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa

⁴Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos

⁵Pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos, Orientador

*Apresentador do pôster: danisvania.ripardo@hotmail.com