
CUSTO DOS ANTÍGENOS E DOS TESTES PARA DIAGNÓSTICO DE LENTIVÍRUS DE PEQUENOS RUMINANTES

COST OF THE ANTIGENS AND TESTS TO DIAGNOSIS OF SMALL RUMINANTS LENTIVIRUS

Raimundo Rizaldo Pinheiro ¹
Aurora Maria Guimarães Gouveia ²

Antônio Maria Claret Torres ²
Alice Andrioli ¹
Francisco Selmo Fernandes Alves ¹

RESUMO – Os lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR) foram introduzidos no Brasil através da importação de caprinos e ovinos de países onde a sua prevalência é alta. Neste trabalho procurou-se estimar os custos para produção do antígeno e dos testes de diagnóstico sorológico: microimunodifusão em gel de agar (MIDGA), ELISA Indireto (ELISA-I) e *Dot-Blot*. Nesta estimativa foram considerados os custos desde a produção das células utilizadas no cultivo primário, até a realização final dos testes. Incluíram-se nos cálculos os valores referentes aos custos diretos fixos e variáveis e custos indiretos fixos e variáveis. Os custos para a produção de antígeno para MIDGA e dos ensaios imunoenzimáticos (ELISA-I e *Dot-Blot*) foram de US\$ 23,49/mL e US\$ 84,81/mL, respectivamente. Os valores estimados para os testes foram: US\$ 0,71 (MIDGA), US\$ 1,00 (*Dot-Blot*) e US\$ 1,22 (ELISA-I). No caso do MIDGA, o cálculo baseou-se na produção de 112 testes referentes a 1 mL de antígeno, utilizando 35 mL por poço, para o diagnóstico de quatro amostras. No *Dot-Blot* e no ELISA-I as amostras foram realizadas em duplicata para maior segurança. Com base nestes resultados verificou-se que o *Dot-Blot* além de ter sensibilidade semelhante ao ELISA-I é 22% mais barato. Comparando-o com o MIDGA é mais caro (29%); entretanto, é mais rápido e sensível.

PALAVRAS-CHAVE – Pequenos ruminantes, testes sorológicos, lentivírus, custo de produção.

ABSTRACT – *Lentivirus of small ruminants (LVPR) had been introduced in Brazil through the importation of goat and sheep of countries where the prevalence is high. In this work it was looked to estimate the costs for production of the antigens and the tests of serologic diagnosis, microimmunodiffusion in agar gel (MIDGA), INDIRECT ELISA (ELISA-I) and Dot-Blot. In this estimate the costs since the production of the cells used in the primary culture until the final accomplishment of the tests had been considered. One included in the calculations the referring values to the costs fixed and changeable right-handers and fixed and changeable indirect costs. The costs for the production of antigen for MIDGA and the immunoenzymatic assays (ELISA-I and Dot-Blot) had been of US\$ 23.49/mL and US\$ 84.81/mL respectively. The estimate values of the tests had been: US\$ 0.71 (MIDGA), US\$ 1.00 (Dot-Blot) and US\$ 1.22 (ELISA-I). On the case of MIDGA the calculation was based on the production of 112 referring tests to 1 mL of antigen using 35 mL for well for the diagnosis of four samples. In the Dot-Blot and the ELISA-I the samples had been carried in duplicates for bigger security. With base in these results it was verified that the Dot-Blot besides having similar sensitivity to ELISA-I is 22%. Comparing it with the MIDGA, is more expensive (29%), however is faster and sensible.*

KEY WORDS – *Small ruminants, serological tests, lentivirus, cost of production.*

INTRODUÇÃO – Os lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR), que causam sérias perdas para a caprinocultura leiteira e ovinocultura, foram introduzidos no Brasil através

da importação de animais de países onde a prevalência dos LVPR é alta (Assis & Gouveia 1994). Os LVPR nos caprinos causam a Artrite Encefalite Caprina (CAE), enquanto

nos ovinos provocam a Maedi-Visna. Atualmente encontram-se disseminados pelo Brasil, estando, por enquanto praticamente restritos aos rebanhos de raças exóticas ou mestiças com as

¹ Médico-veterinário(a) PhD – Pesquisador da Embrapa Caprinos. Estrada Sobral-Groaíras, Km 04. CEP 62011-970, Sobral. CE.

² Médico-veterinário(a) PhD – Professor. Escola de Veterinária UFMG – Av. Antônio Carlos, 6627. CEP 30123-970, Belo Horizonte. MG

mesmas. Para o controle, é necessária a realização periódica de testes sorológicos dos rebanhos, que são realizados com “kit’s” importados, de alto custo, de difícil aquisição e produzidos com a proteína do lentivírus ovino, a qual reduz a sensibilidade do teste para os caprinos. A produção do antígeno e a realização dos testes sorológicos no Brasil são de extrema importância para o controle dessas enfermidades. Neste trabalho procurou-se estimar os custos de produção para elaboração de antígenos e dos testes de diagnóstico sorológico microimunodifusão em gel de ágar (MIDA), ELISA-I e *Dot-Blot*, como referência idônea a ser oferecida aos interessados no assunto.

MATERIAIS E MÉTODOS – A produção do antígeno seguiu conforme metodologia descrita por Abreu (1998). Foram produzidos lotes que levavam em conta um equipamento chave chamado “roller”, com capacidade máxima de 5 garrafas (cada uma com área de 830 cm²) contendo células infectadas pelo Lentivírus caprino (LVC), que produziam cerca de 750 mL de meio de cultura; com o vírus e as células infectadas chegavam a produzir três vezes mais, até ocorrer destruição superior a 70% das células, totalizando aproximadamente 2325 mL de sobrenadante (meio de cultura contendo o vírus). Portanto, para a produção do antígeno, tanto para o teste de MIDGA como para os testes ELISA-I e *Dot-Blot*, foram produzidos lotes de 2325 mL de sobrenadante, que eram concentrados 50 vezes pelo sistema AMICON®, para o teste MIDGA, produzindo 46,5 mL. Para os testes de ELISA-I e *Dot-Blot*, o sobrenadante foi concentrado 180 vezes, por precipitação em polietilenoglicol/ultracentrifugação, produzindo 13 mL (Pinheiro, 2001). O

teste de MIDGA seguiu a metodologia descrita por Gouveia et al. (2000), enquanto os testes de ELISA-I e *Dob-Blot* foram realizados conforme Pinheiro (2001). Na estimativa do custo de produção procurou-se abranger todos os gastos utilizados nos insumos na produção dos antígenos e dos testes citados para o diagnóstico da CAE. Foram considerados os custos, desde a produção das células utilizadas no cultivo primário, até a realização final do teste. Incluíram-se também os valores eferentes aos custos diretos fixos e variáveis e custos indiretos fixos e variáveis. Os valores foram cotados por várias fontes, em dólares ou reais, depois convertidos para dólar americano (1 dólar = R\$ 1,82 real, cotação do dia 24/08/00). Como referência citou-se o preço FOB (carta proposta) do “kit” americano para o diagnóstico da MVV/CAEV (Caprine Arthritis-Encephalitis/Ovine Progressive Pneumonia Antibody Test Kit. Veterinary Diagnostic Technology, Inc®) de US\$ 85.00. Os custos diretos fixos foram compostos por todo o material, principalmente de laboratório, usado diretamente no projeto, juntamente com a mão de obra direta e encargos. Todas as etapas foram detalhadamente calculadas. Na mão de obra foi incluído o tempo médio de passagem, troca de meio de cultura e inoculação viral de garrafas, de acordo com o número e o tipo destas. Todos os componentes, reagentes e meios utilizados foram dimensionados e calculados os gastos proporcionalmente. Quanto aos custos diretos variáveis, computaram-se a utilização de material laboratorial reutilizável (vidraria e plásticos), equipamentos, energia direta e material de lavagem. O custo na quebra da vidraria foi inserido no desgaste calculado no custo direto variável. Com relação aos equipamentos o gasto foi elaborado

com base no preço do equipamento novo, vida útil deste, desgaste e depreciação tecnológica por ano. A vida útil do equipamento foi considerada com uma carga de trabalho diária de 8 horas e o gasto pelo percentual de uso do equipamento, com relação às horas trabalhadas.

Desgaste e depreciação tecnológica p/ano - valor do equipamento ou material novo - valor de sucata (0-20%)/vida útil

Desgaste de uso direto – percentual de uso do equipamento no momento da utilização x desgaste e depreciação tecnológica/ano

Com vistas aos custos indiretos fixos (administração do laboratório e suas instalações, transformador de energia, mão de obra, etc.) convém salientar que, no momento da realização do trabalho, as instalações eram utilizadas em vários projetos, conjuntamente e a utilização direta para o projeto estimou-se em torno de 10% no período de um ano. Os custos indiretos variáveis (energia, luz, ar condicionado, água) utilizados foram estimados em 10% do consumo ao ano. Calculou-se, então, que os custos indiretos incidiam em torno de 10% dos custos diretos sendo 3% referentes aos custos indiretos fixos e 7% para os custos indiretos variáveis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO – Na produção de antígeno do LVC para o teste de MIDGA verificou-se o custo de US\$ 23,49/mL. O custo de produção nacional deste antígeno é, aproximadamente, 362% mais barato quando comparado com a importação (compra) do “kit” americano. Para os ensaios imunoenzimáticos o preço encontrado foi de US\$ 84,81/mL. Os valores estimados nos testes foram de: US\$ 0.71 para o MIDGA (Tabela 1); US\$ 1.00 para o *Dot-Blot* e US\$ 1.22 para o ELISA-I (Tabela 2).

Tabela 1. Custo de produção de antígeno do LVC para MIDGA (46,5 mL).

	Preço US\$
CUSTO DIRETO FIXO	
INSUMOS – Material de laboratório	534.99
Mão de obra direta	272.06
CUSTO DIRETO VARIÁVEL	
Material de laboratório	10.39
Equipamentos	122.79
Energia	35.80
Material de lavagem	17.16
CUSTO DIRETO TOTAL	993.19
CUSTO INDIRETO FIXO	
(3% do total dos custos diretos)	29.80
Instalações laboratoriais (10% utilização no projeto)	
Serviço de limpeza	
Instalações elétricas e hidráulicas	
CUSTO INDIRETO VARIÁVEL	
(7% do total dos custos diretos)	69.52
Outros (iluminação, taxas água/esgoto, administração, etc.)	
CUSTO INDIRETO TOTAL	99.32
CUSTO TOTAL	1,092.51
Produção por lote (mL)	46.5
Custo/mL de Antígeno	23.49

Tabela 2. Custo para produção (13 ml) de antígeno do LVC para ensaios imunoenzimáticos (ELISA-I/Dot-Blot).

	Preço US\$
CUSTO DIRETO FIXO	
INSUMOS – Material de laboratório	550.32
Mão de obra direta	259.43
CUSTO DIRETO VARIÁVEL	
Material de laboratório	18.85
Equipamentos	124.10
Energia	36.20
Material de Lavagem	13.36
CUSTO DIRETO TOTAL	1,002.26
CUSTO INDIRETO FIXO	
(3% do total dos custos diretos)	30.07
Instalações laboratoriais (10% utilização no projeto)	
Serviço de limpeza	
Instalações elétricas e hidráulicas	
CUSTO INDIRETO VARIÁVEL	
(7% do total dos custos diretos)	70.16
Outros (iluminação, taxas água/esgoto, administração, etc.)	
CUSTO INDIRETO TOTAL	100.23
CUSTO TOTAL	1,102.49
Produção por lote (mL)	13
Custo/mL de Antígeno	84.81

No caso do MIDGA, o cálculo baseou-se na produção de 112 testes referentes a 1 mL de antígeno utilizando 35µL por poço, para o diagnóstico de quatro amostras. Nos testes *Dot-Blot* e ELISA-I, utilizaram-se aparato para o “*blot*” de 96 poços e placa de 96 poços, respectivamente. Nestes dois testes, as amostras foram realizadas em duplicatas para maior segurança. Nas tabelas 3, 4 e 5 estão descritos os custos para a realização dos testes MIDGA, ELISA-I e *Dot-Blot*, respectivamente.

Tabela 3. Composição do custo do teste MIDGA (12 lâminas – 1 ml de antígeno) para diagnóstico do LVC.

	Preço US\$
CUSTO DIRETO FIXO	
INSUMOS – Material de laboratório	34.92
Mão de obra direta	25.25
CUSTO DIRETO VARIÁVEL	
Material de laboratório	4.12
Equipamentos	1.35
Energia	0.42
Material de lavagem	1.80
CUSTO DIRETO TOTAL	67.85
CUSTO INDIRETO FIXO	
(3% do total dos custos diretos)	2.04
Instalações laboratoriais (10% utilização no projeto)	
Serviço de limpeza	
Instalações elétricas e hidráulicas	
CUSTO INDIRETO VARIÁVEL	
(7% do total dos custos diretos)	4.75
Outros (iluminação, taxas água/esgoto, administração, etc.)	
CUSTO INDIRETO TOTAL	6.78
Custo do teste MIDGA (US\$)	
Custo total = 112 testes	74.63
Custo do teste amostral em duplicata	0.71

Tabela 4. Composição do custo do teste ELISA-I (Placa com 96 orifícios) para diagnóstico do LVC.

	Preço US\$
CUSTO DIRETO FIXO	
INSUMOS – Material de laboratório	14.86
Mão de obra direta	22.50
CUSTO DIRETO VARIÁVEL	
Material de laboratório	3.75

Equipamentos	2.22
Energia	0.94
Material de Lavagem	2.17
CUSTO DIRETO TOTAL	46.44
CUSTO INDIRETO FIXO (3% do total dos custos diretos)	1.39
Instalações laboratoriais (10% utilização no projeto)	
Serviço de limpeza	
Instalações elétricas e hidráulicas	
CUSTO INDIRETO VARIÁVEL (7% do total dos custos diretos)	3.25
Outros (iluminação, taxas água/esgoto, administração, etc.)	
CUSTO INDIRETO TOTAL	4.64
Custo do teste ELISA (US\$)	
Custo total = 42 testes	51.08
Custo do teste amostral em duplicata	1.22

Tabela 5. Composição do custo do teste *Dot-Blot* com 96 poços para diagnóstico do LVC.

	Preço US\$
CUSTO DIRETO FIXO	
INSUMOS – Material de laboratório	12.96
Mão de obra direta	18.83
CUSTO DIRETO VARIÁVEL	
Material de laboratório	3.68
Equipamentos	1.38
Energia	1.07
Material de Lavagem	2.17
CUSTO DIRETO TOTAL	40.08
CUSTO INDIRETO FIXO (3% do total dos custos diretos)	1.20
Instalações laboratoriais (10% utilização no projeto)	
Serviço de limpeza	
Instalações elétricas e hidráulicas	
CUSTO INDIRETO VARIÁVEL (7% do total dos custos diretos)	2.81
Outros (iluminação, taxas água/esgoto, administração, etc.)	
CUSTO INDIRETO TOTAL	4.01
Custo do teste <i>DOT-BLOT</i> (US\$)	
Custo total = 44 testes	44.09
Custo do teste amostral em duplicata	1.00

Pinheiro (2001) observou que o *Dot-Blot* apresenta sensibilidade semelhante ao ELISA-I, além de ser mais rápido que o MIDGA. Reischak (2000) comparando os custos de algumas provas no diagnóstico dos lentivírus de pequenos ruminantes, verificou que o custo do teste de IDGA foi de US\$ 2.48, valor este semelhante ao custo do teste utilizando o “kit” americano (60 amostras). A diferença do custo entre os valores encontrados neste trabalho e o de Reischak (2000), com relação às duas técnicas (IDGA x MIDGA), talvez possa ser explicada, em parte, devido à variação da quantidade de material utilizada. O valor do teste MIDGA utilizando o antígeno nacional, quando comparado ao valor do IDGA com o “kit” americano, chega a ser 408% mais barato. Mesmo utilizando a MIDGA com o “kit” americano, este é 218% mais caro que o antígeno nacional utilizando o MIDGA.

CONCLUSÕES – O custo de produção do antígeno nacional para o diagnóstico de LVC é 362% mais barato que o similar americano. O custo do teste de IDGA utilizando o “kit” americano é 408% mais caro que o teste de MIDGA usando o antígeno nacional. O *Dot-Blot* é 22% mais barato e apresenta sensibilidade semelhante ao ELISA-I. Quando comparado com o MIDGA, apesar de ser mais caro (29%), é mais rápido e sensível. Fica evidente que a produção nacional de antígeno e a padronização dos testes de diagnóstico das LVPR no Bra-

sil é viável, bastando que seja estimulada pelas associações de classe e efetivada pelo setor privado, beneficiando assim a caprino-ovinocultura nacional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, F.T. Isolamento de um vírus sincicial caprino (amostra RPE-03) e comparação da sensibilidade e especificidade relativas do antígeno AEC (amostra Cork) em teste de IDGA. Recife, PE: UFRPE – Departamento de Medicina Veterinária. 1996. 45p. Dissertação (Mestrado).

ASSIS, A.P.M., GOUVEIA, A.M. Evidência sorológica de lentivírus (Maedi-Visna/Artrite Encefalite Caprina) em rebanhos nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Bahia e Ceará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23, Recife, 1994. Anais... Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 1994. p.104.

GOUVEIA, A.M., MELO, L.M., PIRES, L.L., PINHEIRO, R.R. Microimunodifusão em gel de ágar para o diagnóstico sorológico de infecção por lentivírus de pequenos ruminantes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 27, Águas de Lindóia-SP. Anais... Águas de Lindóia: SBMV, 2000. p.33.

PINHEIRO, R.R. Vírus da Artrite encefalite caprina (CAE): desenvolvimento e padronização de ensaios imunoenzimáticos (ELISA e *Dot-Blot*) e estudo epidemiológico no Estado do Ceará. Belo Horizonte, MG: UFMG – Escola de Veterinária, 2001. 115p. Tese (Doutorado em Ciência Animal).

REISCHAK, D. Lentivírus de pequenos ruminantes: imunofluorescência utilizando isolados brasileiros para diagnóstico sorológico de infecção em ovinos e caprinos. Porto Alegre: UFRGS – Faculdade de Veterinária, 2000. 132p. Dissertação (Mestrado).