

UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO ACARAÚ
PROGRAMA DE MESTRADO EM ZOOTECNIA

EFEITO DA DEXAMETASONA EM REPRODUTORES CAPRINOS
PORTADORES DO CAEV

JOIANE ARAÚJO DA PORCIÚNCULA

SOBRAL – CEARÁ

ABRIL - 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO ACARAÚ
PROGRAMA DE MESTRADO EM ZOOTECNIA

EFEITO DA DEXAMETASONA EM REPRODUTORES CAPRINOS
PORTADORES DO CAEV

JOIANE ARAÚJO DA PORCIÚNCULA

SOBRAL – CEARÁ

ABRIL - 2016

JOIANE ARAÚJO DA PORCIÚNCULA

EFEITO DA DEXAMETASONA EM REPRODUTORES CAPRINOS
PORTADORES DO CAEV

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Zootecnia, da Universidade Estadual Vale do Acaraú, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Reprodução Animal.

ORIENTADORA:

PROF. DRA. ALICE ANDRIOLI PINHEIRO

SOBRAL- CE

ABRIL - 2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Estadual Vale do Acaraú

Sistema de Bibliotecas

Porciúncula, Joiane Araújo da
Efeito da Dexametasona em Reprodutores Caprinos
Portadores do CAEV [recurso eletrônico] / Joiane Araújo da
Porciúncula. -- Sobral, 2016.
1 CD-ROM: il. ; 4 ³/₄ pol.

CD-ROM contendo o arquivo no formato pdf do trabalho
acadêmico com 73 folhas.

Orientação: Prof.^a Dra. Alice Andrioli Pinheiro.

Co-Orientação: Prof. Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro.

Dissertação (Zootecnia) - Universidade Estadual Vale do
Acarau / Centro de Ciências Agrárias e Biológicas

1. Sêmen. 2. Hemograma. 3. Lentivirus. 4. Corticoide. 5.
Parametros Reprodutivos. I. Título.

JOIANE ARAÚJO DA PORCIÚNCULA

**EFEITO DA DEXAMETASONA EM REPRODUTORES CAPRINOS
PORTADORES DO CAEV**

Dissertação defendida e aprovada em: ____ / ____ / ____ pela Comissão Examinadora:

Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro
Universidade Estadual Vale do Acaraú-UVA
Embrapa Caprinos e Ovinos
Co-orientador

Dr. Diônes Oliveira Santos
Embrapa Caprinos e Ovinos

Dra. Ângela Maria Xavier Eloy
Universidade Estadual Vale do Acaraú-UVA
Embrapa Caprinos e Ovinos

Dra. Alice Andrioli
Universidade Estadual Vale do Acaraú-UVA
Embrapa Caprinos e Ovinos
Presidente

**SOBRAL – CE
ABRIL - 2016**

A minha mãe, Iara Enilda Araújo, principal responsável por todas as minhas vitórias, sempre presente me dando forças e me apoiando em todas as minhas decisões.

OFEREÇO!

A minha família, em especial a minha mãe, meu pai e ao meu noivo e principalmente a todos aqueles que contribuíram e acreditaram neste trabalho, aos meus orientadores Dra. Alice Andrioli Pinheiro e Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro, que acreditaram e confiaram a mim esta tarefa, a todos os demais funcionários e estagiários da Embrapa Caprinos e Ovinos.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu criador, protetor, porto seguro.

À Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA), por minha formação acadêmica desde a graduação até a presente ocasião, e pela viabilização desta pesquisa.

À Embrapa Caprinos e Ovinos, onde pude realizar meu experimento e onde encontrei ótimos profissionais, que me auxiliaram desde o início; ao João Ricardo Furtado por toda paciência, ao José Nóbrega Medeiros por todo ensinamento e paciência, a Dona Helena Araújo da Ponte a qual pude perturbar muito na procura por reagentes, obrigada. À Osmarilda Maria Machado Alves por sua boa vontade, auxílio e muita paciência, obrigada.

À Fundação Cearense de Apoio a Pesquisa (FUNCAP), pelo apoio financeiro.

A minha orientadora Dra. Alice Andrioli por todo ensinamento que não foram poucos, os quais certamente levarei para sempre comigo, pela paciência de me ter todo dia em sua sala, com um novo questionamento, uma mulher maravilhosa, que mesmo em dias que eu me encontrava em crise nervosa ou de asma se prontificava a me auxiliar pessoalmente. Eu tive muita sorte em ter uma pessoa tão boa como minha orientadora, uma pessoa capaz de acalmar qualquer dragão com seu jeito, e um enorme coração. Meu muito obrigada. Obrigada por me aceitar como sua orientanda. De sua pulguinha!

Ao meu co-orientador Dr. Rizaldo, por toda ajuda e auxílio, agradeço por toda disponibilidade e paciência, pelos ensinamentos, por me fazer enxergar que as vezes eu inventava monstros onde eles não existiam, ou minhas reclamações desnecessárias, ou por me mostrar que por mais que você ache que vai dar tudo errado e entrar em desespero, sempre é possível recomeçar. Obrigada.

Aos operários de campo Orlando e Louro, os quais sempre estiveram disponíveis, mesmo que de última hora e contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa, com muita paciência, e todas as conversas que sempre me arrancavam risadas, obrigada pelas piadas nos dias de tensão, fazendo com que meu dia fosse mais leve.

Aos estagiários e outros mestrados que quando necessário e possível estendiam sua disponibilidade aos projetos alheios, a Laninha, ao Edgar, a Lídia, ao Vanderlan pela

ajuda, a Jessica por sempre me socorrer em horas que eu já não sabia onde estavam os meus reagentes e usava os dela, obrigada. A Dalva com suas cantorias diárias, e sua imensa ajuda na fase final do experimento. A Mariana que mesmo atrapalhando ajudou. A Kelma mesmo não estando mais na sede da Embrapa Caprinos e Ovinos, me socorreu por diversas vezes por telefone, quando me deparava com situações inusitadas. Meu muito Obrigada.

- " Todas as verdades são fáceis de entender, uma vez descobertas. O caso é descobri-las".

Galileu Galilei

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	XII
LISTA DE FIGURAS	XIII
LISTA DE GRÁFICOS	XIV
RESUMO GERAL	XVI
GENERAL ABSTRACT	XVI
CONSIDERAÇÕES GERAIS	XVII
CAPITULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO	20
Introdução	21
1 Lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR)	22
1.1 Classificação	22
2 Vírus da Artrite-Encefalite Caprina	24
2.1 Epidemiologia	24
2.2 Transmissão	25
2.2.1 Fatores que afetam a transmissão do CAEV	25
2.2 Transmissão vertical e horizontal	26
2.2.3 Transmissão por via sexual.....	26
2.3 Sinais clínicos	27
3 Sêmen	29
3.1 Avaliação Macroscópica	32
3.2 Avaliação Microscópica	32
3.3 Leucócitos no sêmen	35
4 Glicocorticoides	37
5 Diagnostico Laboratorial	38
5.1 Western Blot.....	39
5.2 Reação de Cadeia em Polimerase (PCR)	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
CAPITULO 2- EMPREGO DA DEXAMETASONA EM REPRODUTORES PORTADORES DO CAEV	52
Resumo	53
Abstract	54
Introdução	55
Materiais E Métodos	57
Coleta de sêmen e delineamento experimental	57
Corticoterapia	58
Coletas de sangue	59
Reação de Cadeia Polimerase (PCR) e nested – PCR	59
Análise estatística	60
Resultado E Discussões	61
Conclusões	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
CONSIDERAÇÕES FINAIS	73

LISTA DE TABELAS**CAPÍTULO 1**

1. Concentração do sêmen caprinos correlacionados por sua cor e consistência 33
2. Escala de vigor espermático 34

CAPÍTULO 2

1. Cronograma do tratamento com Dexametasona associado ao enrofloxacino e as coletas de sêmen e sangue, dos reprodutores portadores do CAEV 58
2. Parâmetros Reprodutivos dos animais durante o pré tratamento, corticoterapia e após o tratamento com Dexametasona 61
3. Resultado do PCR-n em amostras de sêmen de reprodutores em diferentes horários com relação ao tratamento com Dexametasona 62
- 4 Parâmetro hematológico (media +- dp) de reprodutores infectados pelo vírus da Artrite Encefalite Caprina 66

LISTA DE FIGURAS**CAPÍTULO 1**

1. Estrutura do CAEV	23
2. Articulação cárpica aumentada de reprodutor soropositivo para o CAEV.....	28
3. Reprodutor caprino soropositivo para o CAEV com emagrecimento crônico.....	29
4. Órgãos responsáveis pela formação do plasma seminal	30
5. Representação da célula espermática dividida em partes	31
6. Monócito presente no sêmen de caprinos soropositivos para CAE, corado com líquido Thomas	36

CAPÍTULO 2

1. Gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio. Amplificação do DNA pró-viral de amostras de sêmen de caprinos infectados com o CAEV. M: marcador molecular, DNA ladder; C+: controle positivo; C- : controle negativo; canaletas 3, 4, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17,18, 19: amostras negativas; canaletas 5,7,8, 16 e 20: amostras positivas (187pb).....	62
2. Leucócitos presente em esfregaço de sêmen corado com líquido Thomas	64

LISTA DE GRÁFICOS

CAPÍTULO 2

1. Porcentagem de neutrófilos, monócitos e linfócitos com relação aos leucócitos 67

RESUMO GERAL

Dentre as enfermidades infecciosas que afetam os caprinos a Artrite-encefalite caprina é a principal doença de origem viral (Vírus da Artrite Encefalite Caprina - CAEV). O CAEV pertence ao gênero Lentivírus dentro da Família Retroviridae, Subfamília Orthoretrovirinae. A fonte de infecção do CAEV são os próprios caprinos infectados e seus fluidos orgânicos, sendo que esta enfermidade tem se demonstrado de difícil controle, devido à falta de informação sobre o grau de comprometimento dos rebanhos, da dificuldade de acesso ao diagnóstico e do desconhecimento do risco de algumas vias de transmissão, como é o caso da contaminação pelas vias reprodutivas. Além disso, o CAEV apresenta longo período de incubação, alta prevalência de infecção assintomática e de resultados falso-negativos pelas técnicas de diagnóstico, bem como da existência de latência viral. Nos reprodutores a presença do CAEV foi identificada no sêmen, nos testículos, no epidídimo, no canal deferente e na vesícula seminal, pelas técnicas de PCR, RT-PCR e hibridização *in situ* e foi comprovada a transmissão através da inseminação artificial utilizando sêmen contaminado. Assim objetivou-se analisar o efeito da Dexametasona no parâmetro reprodutivo e da verificação da funcionalidade do mesmo em reprodutores caprinos acometidos pela CAE para diminuição do quantitativo de monócito e macrófagos, que são células alvos do CAEV. Os resultados demonstram que a Dexametasona causa uma prejuízo temporário nos parâmetros reprodutivos, porém levou a uma diminuição do número de monócitos no sangue assim como diminuiu a presença de DNA – proviral no sêmen, demonstrando que a Dexametasona pode vir a ser utilizada para combater infecções de animais acometidos pelo CAEV.

Palavras-chave: sêmen, hemograma, Lentivirus, corticoides, parâmetros reprodutivos.

GENERAL ABSTRACT

Among the infectious diseases that affect goats caprine arthritis-encephalitis is the leading viral disease (Arthritis Encephalitis Virus Caprina - CAEV). The CAEV belongs to the Lentivirus genus within the family Retroviridae, subfamily Orthoretrovirinae. The source of CAEV infection are themselves infected goats and their body fluids, and this disease has proven difficult to control due to the lack of information on the degree of commitment of the herds, the difficulty of access to diagnosis and the lack of some risk of transmission routes, such as contamination of the reproductive tract. In addition, CAEV has a long incubation period, high prevalence of asymptomatic infections and false-negative results by diagnostic techniques as well as the existence of viral latency. In breeding the presence of CAEV was identified in semen, testes, epididymis, vas deferens and seminal vesicle, by PCR techniques, RT-PCR and in situ hybridization and was proven transmission through artificial insemination using semen contaminated. So it aimed to analyze the effect of Dexamethasone on reproductive parameters and monitoring of the same functionality in breeding goats affected by CAE to decrease the quantity of monocytes and macrophages, which are cells targets of CAEV. The results show that Dexamethasone causes a temporary loss in reproductive parameters, but led to a decrease in the number of monocytes in the blood as well as reduced the presence of DNA - proviral semen, showing that dexamethasone might be used to combat infections animals affected by CAEV.

Keywords: semen, blood count, lentivirus, corticoids, reproductive parameters.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

O crescimento da caprinocultura no Brasil deve-se, principalmente, a sua importância socioeconômica, especialmente na região Nordeste, onde apresenta grande potencial, pois os caprinos exibem boa adaptação ao semiárido. No entanto, para aumentar a produção temos que ampliar os conhecimentos sobre nutrição, sanidade, reprodução e melhoramento genético para esta espécie.

Há anos tem-se a preocupação de melhorar a qualidade e aumentar a produção dos rebanhos de pequenos ruminantes, sendo assim, em 1978, houve grandes importações de caprinos para o Brasil, procedentes de vários países da Europa como a França, Suíça, Alemanha, Holanda e Inglaterra; da América do Norte, dos Estados Unidos e Canadá, com a finalidade de introduzir material genético novo, visando melhorar o padrão genético destes e por consequência a produção dos rebanhos nacionais. Nessas importações, realizadas sem a devida supervisão sanitária, houve também a introdução de doenças no cenário nacional, sendo uma delas, a Artrite-Encefalite Caprina (CAE).

Atualmente, a CAE está disseminada por todo território nacional, levando à perdas genéticas e produtivas, uma vez que esta enfermidade pode ser transmitida por fômites contaminados, manejo inadequado, pela ingestão de colostro e leite contaminado, pelo contato entre os animais com saliva, secreções respiratórias e urogenitais e através de inseminação artificial (IA), já que o vírus da Artrite-encefalite caprina (CAEV) também foi encontrado no sêmen e no órgão sexual de reprodutores. A transmissão do CAEV de reprodutor infectado para fêmeas, através da IA, pode ocasionar a disseminação rápida do vírus no rebanho.

Como a doença é incurável recomendava-se que os animais doentes fossem sacrificados, a fim de evitar a contaminação do rebanho, com isso houve perdas de reprodutores e matrizes de alto valor genético. A CAE é uma doença viral de evolução lenta, podendo manifestar sintomas com severidade variada, e ainda permanecerem assintomáticos por um longo período.

O CAEV tem como principais células-alvo os monócitos presentes no sangue e os macrófagos do sistema nervoso, articulações, aparelho respiratório e glândula mamária, sendo seus principais sintomas a artrite progressiva, mastite, pneumonias em animais adultos, e problemas neurológicos como leucoencefalomielite em animais jovens, além de emagrecimento progressivo em animais adultos.

Um fator de agrave para a presença do CAEV, no sêmen é a injúria testicular, provavelmente devido ao maior fluxo de monócitos e macrófagos para o órgão reprodutor, resultando em aumento da carga viral, no sêmen.

Além disso, vários autores observaram que a presença do CAEV, no sêmen é intermitente, concluindo que possa ser sazonal, ligada ao aumento da atividade sexual e ao estresse durante a estação reprodutiva.

No entanto, apesar de estarem num ambiente infectado, os gametas, masculino e feminino parecem estar livres do CAEV. A fim de diminuir a carga viral, algumas técnicas que utilizam métodos físicos para separação dos espermatozoides do fluido seminal, como o *Swim-up*, que desenvolvido visando a eliminação dos patógenos e utilização em biotecnologias da reprodução.

Todavia, foi relatado ainda que, mesmo sendo realizada a lavagem do sêmen caprino com o propósito de diminuir a carga viral, não foi possível eliminar, totalmente, o lentivírus caprino do sêmen.

Estudos mostram que os glicocorticoides apresentam potente efeito anti-inflamatório e imunossupressor, sendo que os glicocorticoides sintéticos possuem essa mesma atividade, porém ampliada. Os glicocorticoides são capazes de bloquear desde as manifestações mais precoces do processo inflamatório como dor, calor e rubor, até as mais tardias, como a reparação e proliferação tecidual.

Como o CAEV infecta os monócitos e macrófagos, que também são sensíveis aos efeitos inibitórios dos glicocorticoides, interferindo na sua habilidade de fagocitar e eliminar organismos invasores, torna-se plausível optar por corticoides de ação mais rápida e por via intravenosa, como fosfato sódico de Dexametasona, visando diminuir a carga viral. A imunidade celular, também é afetada pelo fato dos glicocorticoides interferirem na apresentação dos antígenos aos receptores de membrana dos monócitos fagocitários.

Em altas doses, a corticoterapia é capaz de reduzir de forma moderada as concentrações séricas de imunoglobulinas, apontando um efeito, também sobre os linfócitos B. A monocitopenia observada leva a alterações significativas nas funções de monócitos-macrófagos, diminuindo, assim, a resistência do hospedeiro a infecção. Os glicocorticoides, também reduzem a função de apresentação de antígenos destas células, além de reduzirem outras funções específicas, tais como a inflamação. No entanto, a natureza exata da ação dos glicocorticoides em animais domésticos não está totalmente elucidada.

Para verificar a presença do DNA pró-viral do CAEV nas partidas seminais utilizou-se o teste de PCR *Nested*.

CAPÍTULO 1- REFERENCIAL TEÓRICO

INTRODUÇÃO

A atividade pecuária está fundamentada na exploração animal, que deve seguir bons parâmetros sanitários e promover adequada qualidade de vida para os animais de produção. Assim, os animais devem estar livres de doenças, em bom estado nutricional, em condição de bem-estar e respeito ao meio ambiente, promovendo assim uma alta produtividade.

Para que esses conceitos sejam colocados em prática é necessário que exista um conhecimento sobre as doenças que possam vir a acometer a caprinocultura. No caso específico os lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR) que inclui a Artrite Encefalite Caprina (CAE) é uma das enfermidades da espécie que mais causa prejuízos à caprinocultura que está difundida mundialmente (NASCIMENTO, 2014).

O agente etiológico da CAE é o Vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV), um vírus RNA que pertence ao gênero *Lentivirus*, Família *Retroviridae*, Subfamília *Orthoretrovirinae* (ICTV, 2015).

Está comprovada a presença do CAEV no sêmen, tanto na forma livre (RNA viral), como na forma de DNA pró-viral integrado as células não espermáticas, tornando possível a transmissão via sexual, como a inseminação artificial (SOUZA et al., 2014). Assim é importante que se encontre maneiras viáveis de neutralizar a doença ou minimizar seus efeitos, pois onde ocorre a transmissão via sexual há uma maior disseminação da doença, pois através da inseminação artificial o número de fêmeas que podem receber este material contaminado é expressivamente maior.

Com base nessa realidade tem-se trabalhado com métodos que busquem inativar o vírus, no sêmen para que, além de não ocorrer a perda do material genético, não ocorra a disseminação da doença. Tratamentos veem sendo testados e aperfeiçoados para que matrizes e crias não sejam contaminadas e possa se manter um rebanho livre da doença (AVILA, 2013). Assim o material de reprodutores positivos, mas de excelente genética, poderá ser crio preservado para futuras inseminações, reduzindo os riscos de transmissão e de perdas econômicas geradas pela doença.

1. LENTIVÍRUS DE PEQUENOS RUMINANTES (LVPR)

1.1 CLASSIFICAÇÃO

Os Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR) são retrovírus não oncogênicos, caracterizados pelo longo período de latência, e podem se disseminar no organismo sem qualquer sinal clínico por meses ou anos (STRAUB, 2004), provocando enfermidades de curso progressivo, denominadas de artrite-encefalite caprina (CAE), (ADAMS E CRAWFORD, 1980) e o Maedi-Visna (MV) ou pneumonia progressiva ovina (SOUZA, 2007). Ocorre reação cruzada entre o CAEV e o Vírus da Maedi-Visna (MVV), formando assim, um grupo heterogêneo e não mais como vírus estritamente relacionados às espécies (ADAMS E CRAWFORD, 1980; NASCIMENTO et al., 2014).

Primeiro isolamento de Lentivírus em pequenos ruminantes foi feito por Sigurdson (1954) em ovinos, quando o mesmo consagrou o termo “vírus lentos”, pelo fato de causarem uma infecção crônica de evolução lenta, persistente, progressiva e degenerativa (NASCIMENTO et al, 2014). A CAE foi descrita na década de 70 nos Estados Unidos (EUA) por CORK et al., (1974) mas a primeira vez que o vírus foi isolado em caprinos foi em 1980 por Crawford et al.

Em relação à estrutura, os lentivírus são pleomórficos, esferóides, envelopados, com 80-100nm de diâmetro possuindo pequenas projeções do envelope dispersas em toda superfície (CLEMENTS; PAYNE, 1994). Seu genoma é composto de duas moléculas idênticas de RNA, lineares, de cadeia simples, não complementares e de polaridade positiva. O RNA genômico, através da transcriptase reversa, dará origem ao genoma da célula hospedeira, sendo então denominado de provírus (NARAYAN, 1982).

No genoma do lentivírus estão presentes genes estruturais, *gag* (antígenos específicos de grupo), *pol* (polimerase) e *env* (envoltório); genes que regulam a expressão do genoma viral (*tat*, *rev* e *vif*). Essa última, proteína VIF (fator de infectividade viral) tem a função de facilitar a infectividade e a difusão do mesmo, particularmente, em linfócitos primários e macrófagos (CLEMENTS; PAYNE, 1994).

No CAEV o envelope fosfolipídico na parte externa constituído pelos produtos do gene *env*, está associado covalentemente com as glicoproteínas transmembranárias (TM) e de superfície (SU) e atuam na penetração do vírus na célula. Outra estrutura presente na partícula viral é a matriz, situada entre o capsídeo e o envelope (PEPIN et al., 1998), a parte interna é constituída pelos produtos dos genes *gag*, e do gene *pol*, as

proteínas com funções enzimáticas: protease (PR), transcriptase reversa (TR), integrase (IN) e dUTPase, e pelo RNA genômico (GONDA, 1994; JOAG et al., 1996). Demonstradas na Figura 01.

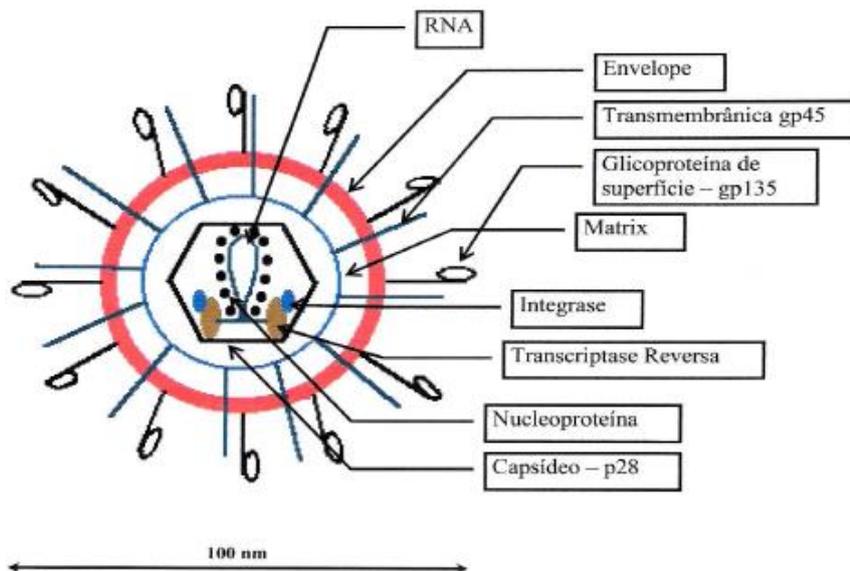


Figura 1: Estrutura do CAEV.

Fonte:(PINHEIRO (2001) apud COFFIN, 1996).

Os carboidratos da superfície conferem as principais propriedades biológicas dos lentivírus. O ácido siálico acarreta um marcante grau de resistência à degradação do vírus pelas enzimas proteolíticas e à neutralização do agente por anticorpos, contribuindo, assim, para o aumento da resistência do microorganismo frente às enzimas do trato digestivo, à resposta humoral e as lavagens como a *swim up* descritas por Ávila et al. (2013) o que facilita a sua entrada no hospedeiro e a persistência da infecção (HUSO et al., 1988).

O elevado nível de heterogenicidade do nucleotídeo e da sequência de aminoácidos dos lentivírus determinam sua antigenicidade, crescimento e virulência, assim como a sua persistência e capacidade de debelar o sistema imunológico (FEITOSA et al., 2011). O Lentivírus Caprino é geneticamente instável, como previamente observados (LAAMANEN et al., 2007; FEITOSA et al., 2011).

A agregção do CAEV ao organismo do hospedeiro causa doença de caráter crônica com longo período de latência e inclui doenças neurológicas e imunológicas. (CLEMENTES; PEYNE, 1994). Os vírus penetram no organismo dos animais geralmente por via oral ou respiratória, caem na circulação sanguínea e infectam as células do sistema monocítico-fagocitário que possui uma particular afinidade.

A capacidade de infectar persistentemente os macrófagos, sem causar lise celular, facilita a disseminação do vírus no próprio hospedeiro (NARAYAN, 1982). Os monócitos infectados que não expressam o vírus chegam ao cérebro, pulmões, articulações e outros órgãos, onde maturam para macrófagos que ativam a expressão do gene viral e os vírus então são produzidos nestes órgãos (CLEMENTES; PEYNE, 1994). O CAEV é resistente à radiação ultravioleta e sensível a solventes lipídicos, formaldeído, ribonuclease e pH abaixo de 4,2, tendo sua infectividade destruída a 56°C quando submetido a um tempo mínimo de uma hora (HIRSH; ZEE, 2003, SOUZA, 2014).

2. VÍRUS DA ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA

2.1 EPIDEMIOLOGIA

Provavelmente a introdução de caprinos provindos de importações de países da Europa e América do Norte, no final dos anos 70, tenha contribuído e iniciado a disseminação da doença. Nessas importações os animais foram inseridos no rebanho para melhorar a qualidade do produto, fazendo com que ocorresse uma disseminação em todo plantel (MOOJEN et al., 1986).

A ocorrência no Brasil de soropositividade para LVPR foi relatada pela primeira vez no Rio Grande do Sul (RS), em caprinos. Moojen et al., (1986), em propriedades com histórico de importação de animais, de onde ocorreu o primeiro isolamento viral (HÖTZEL et al., 1993). Nesta mesma década, a CAE foi diagnosticada na Bahia, em caprinos importados do Canadá (FITTERMAN, 1988). Entretanto, o vírus já circulava no país há algum tempo antes do primeiro relato, já que amostras de soro de caprinos colhidas entre 1982 e 1988, no Rio de Janeiro e testadas anos mais tarde, apresentaram resultados positivos (CUNHA et al., 1995).

Estudos soroepidemiológicos têm demonstrado a ocorrência dos LVPR em vários estados brasileiros, no rebanho caprino (MELO E FRANKE, 1997; PINHEIRO et al.,

2001; ALMEIDA, 2003; MOREIRA et al., 2007; BANDEIRA et al., 2008; MARTINEZ et al., 2011; LIMA, 2012; SAMPAIO et al., 2012). O principal fator a contribuir para a presença desses patógenos é sem dúvida a falta de controle sanitário na introdução de animais (SARAIVA NETO et al., 1995; PISONI et al., 2005; SILVA et al., 2005).

Os primeiros estudos realizados no Ceará que constataram a presença do vírus em rebanhos locais foram realizados na década de 80 por Pinheiro et al. (1989), no município de Sobral, onde verificou-se a presença do vírus em rebanhos da raça Pardo Alpina e Saanen.

2.2 TRANSMISSÃO

A principal fonte de transmissão são os caprinos infectados, seus fluidos e materiais que foram expostos a eles sem a devida desinfecção. Recomenda-se que os animais doentes sejam isolados e que os materiais utilizados nestes sejam descartados ou adequadamente desinfetados.

A transmissão ocorre por meio de secreções ou excreções ricas em células do sistema monocítico-fagocitário, principalmente macrófagos (FEITOSA, 2007). Visto que o CAEV encontra-se associado a macrófagos e monócitos e como estas células estão presentes em vários compostos biológicos, como sêmen, sangue, colostro, saliva, entre outros (ANDRIOLI, 2001).

2.2.1 FATORES QUE AFETAM A TRANSMISSÃO DO CAEV

Fatores como estresse, infecções oportunistas, bacterianas ou virais aumentam a manifestação da infecção. Já outros como, idade, sexo, raça, não interferem na susceptibilidade ao CAEV (ANDRIOLI, 2001).

O uso da inseminações artificiais (IA) sem o teste adequado serve como porta de entrada para um risco real de contaminação em massa, visto que, o sêmen de um reprodutor pode inseminar várias fêmeas de uma só vez (SOUZA et al., 2014).

2.2.2 TRANSMISSÃO VERTICAL E TRANSMISSÃO HORIZONTAL

Transmissão vertical é a que ocorre através da ingestão de colostro e leite contendo macrófagos infectados (ZINK; JOHNSON, 1994) e pode ocorrer também pela via transplacentária ou no útero, segundo Blacklaws et al., (2004), pois o vírus está presente em células do oviduto e no ovário, nas células do *cúmulos oophorus*, em células do córtex ovariano e em folículos pré-antrais (FIENI et al., 2003; ALI AL AHAMAD et al., 2005; SILVA, 2006). É possível, também haver a contaminação no momento do parto por via fluido intrauterino (ANDRIOLI, 2001).

A transmissão horizontal ocorre pela inalação de líquidos respiratórios contendo os vírus ou células infectadas, pode ocorrer de forma indireta, através de agulhas infectadas ou outros materiais perfuro cortantes, através de tatuadores contaminados com sangue de animal infectado (LARA et al., 2003), ordenhadeira mecânica (ADAMS et al., 1983), e pode ocorrer de forma direta, tendo a digestiva como fonte principal como descrita anteriormente, contato direto e prolongado de animais contaminados com sadios, sendo um importante fator na transmissão do vírus (BLACKLAWS et al., 2004), e a transmissão sexual como uma potente fonte de infecções, seja pela por monta natural ou pela inseminação artificial, (SOUZA et al., 2014).

2.2.3 TRANSMISSÃO POR VIA SEXUAL

Logo após a descrição dos primeiros casos de infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) no homem, foi levantada a hipótese da transmissão do mesmo pelo sêmen (GUPTA et al., 2000). No homem, o sêmen de indivíduos soropositivos para HIV representa a principal via de transmissão da doença (LE TORTOREC E DEJUCQ-RAINSFORD, 2007).

Dentre as enfermidades que podem ser transmitidas por via sexual encontram-se a epididimite ovina e a Maedi Visna (MVV) no sêmen de ovinos, e que esta, tinha maior significância em reprodutores co-infectados com *Brucella ovis* (DE LA CONCHA-BERMEJILLO et al., 1996), no caso do vírus da imunodeficiência felina, lentivírus que

infecta felinos domésticos e selvagens, sendo relatada sua detecção em células não-espermáticas do sêmen (JORDAN et al., 1995).

A transmissão sexual foi sugerida como uma potencial forma de infecção, pois a mesma havia sido detectada na presença do DNA pró-viral do sêmen, de animais natural e experimentalmente infectados, fazendo com que a monta natural e a inseminação artificial representarem um risco para a transmissão do vírus (ANDRIOLI et al., 1999; TRAVASSOS et al., 1999; PAULA et al., 2009). No entanto, ainda não existem relatos que essa transmissão seja possível da fêmea para o macho.

Peterson et al. (2008) observaram a presença do DNA pró-viral na fração composta de agregados e partes de espermatozoides no sêmen de animais infectados, separado pelo gradiente de Percoll, eles relataram ainda que pequenos ruminantes possuem eliminação intermitente de DNA pró-viral de Lentivirus em ejaculado, juntamente com debris citoplasmáticos, macrófagos e células originárias de órgãos sexuais e também demonstraram que uma única amostra de sêmen PCR-negativa não pode ser usada como uma ferramenta diagnóstica para predizer que subsequentes ejaculados também estarão livres do Lentivirus.

Andrioli et al. (2006) ressaltam que possíveis danos testiculares podem ocasionar um aumento na eliminação do DNA pró-viral do CAEV no sêmen.

Em 2014, Souza e colaboradores comprovaram a transmissão do CAEV através da inseminação artificial, utilizando sêmen contaminado pelo CAEV-Cork, em 100% das cabras inseminadas, sendo comprovado pelo teste *Western Blot* (WB) aos 60 dias após as inseminações. Ali Al Ahmad et al. (2007) e Oliveira et al. (2007) demonstraram que há presença do RNA genômico no sêmen de caprinos infectados.

2.3 SINAIS CLÍNICOS

A CAE acomete animais de todas as faixas etárias, de ambos os sexos e de diferentes raças. É uma doença crônica com evolução lenta e agravamento progressivo das lesões (LARA, 2003).

Os principais sintomas da CAE, em animais adultos são: artrite progressiva crônica caracterizada pelo aumento de volume nas articulações (Figura 2); o emagrecimento progressivo, mesmo quando o animal mantém a ingestão de alimentos nos níveis normais exigidos para a espécie (Figura 3); pneumonia intersticial e a mastite. Os animais jovens podem manifestar a sintomatologia nervosa que se caracteriza pela leucoencefalomielite.

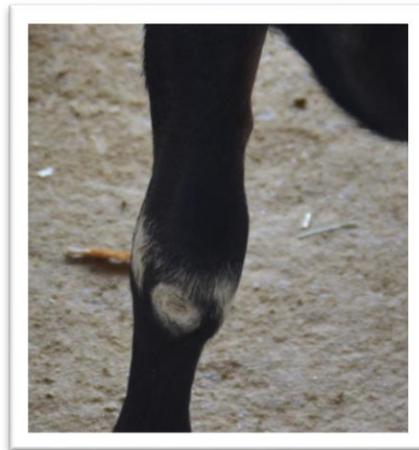


foto: Joiane Araújo da Porciúncula

Figura 2: Articulação cárpica aumentada, de reprodutor soropositivo para o CAEV

A forma artrítica da doença é o quadro clínico mais frequente da CAE (CRAWFORD E ADAMS, 1981), sendo que o aumento da consistência e tamanho das articulações, são observadas, mais comumente, nas articulações carpianas e raramente em outras articulações como o jarrete (LARA et al., 2005). Com a evolução da doença, constata-se claudicação intensa, manifestação de dor e dificuldade de locomoção, o animal pode apresentar manqueira ou ficar em decúbito devido a dor (PINHEIRO et al., 2005).

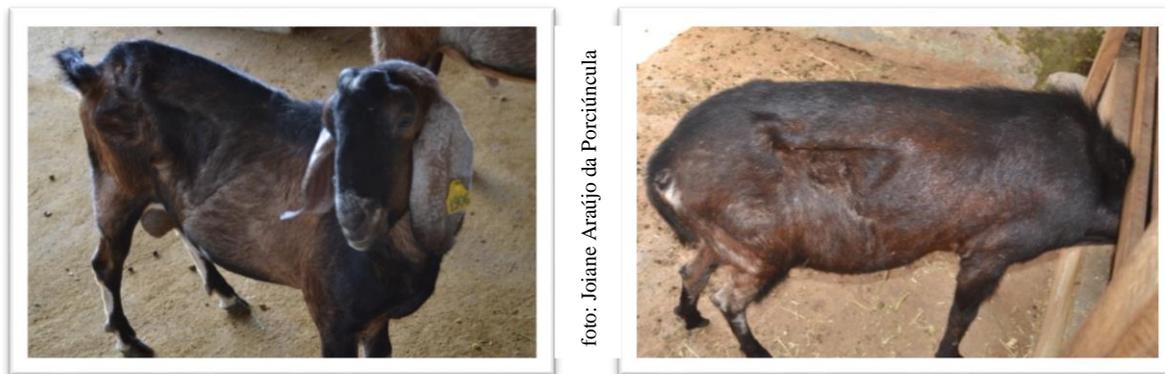


Figura 3: Reprodutor caprino soropositivo para o CAEV com emagrecimento crônico.

Em conjunto com a sintomatologia articular e nervosa, os caprinos adultos infectados podem apresentar inflamação grave, progressiva e crônica em muitos órgãos e estruturas, como glândula mamária, pulmões, inflamações testiculares entre outros.

A forma como o vírus se manifesta no trato reprodutivo masculino, ainda não está totalmente elucidada, mas foi confirmada por Souza (2014) a liberação do vírus através do ejaculado, estando presente tanto no sêmen, na peça intermediária (RICARTE, 2009), quanto no plasma seminal. Na maioria das vezes a infecção é subclínica e as lesões podem ser parcialmente determinadas pela resposta imune do hospedeiro e não pelo ataque direto do vírus (HIRSH E ZEE, 2003).

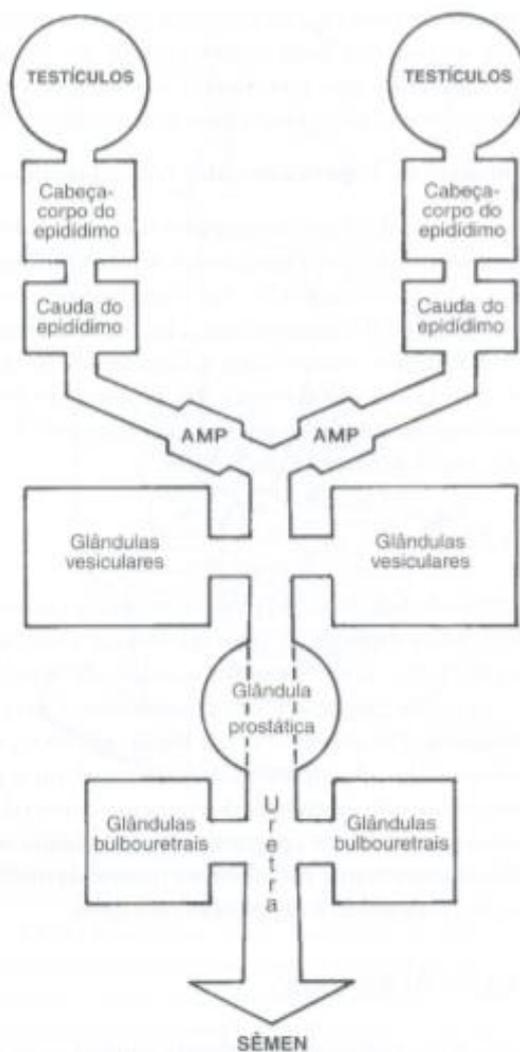
Foi comprovado que animais que são portadores do vírus podem permanecer por longos períodos sem apresentar nenhuma sintomatologia clínica e manter sua fertilidade e libido no mesmo nível de animais normais da mesma raça e idade (ANDRIOLI et al. 2002).

3 SÊMEN

O sêmen é uma suspensão celular levemente viscoso, formado por gametas masculinos e secreções dos órgãos acessórios do trato reprodutivo masculino (HAFEZ; HAFEZ, 2004). A porção fluida desta suspensão é conhecida como plasma seminal, além de uma pequena quantidade de fluido testicular.

O sêmen da maioria dos animais domésticos é composto de contribuições de vários órgãos acessórios incluindo o epidídimo (cabeça, corpo e cauda), glândulas ampolares (AMP), glândulas vesiculares, glândula prostática e glândulas bulbouretrais (figura 4). A contribuição relativa das glândulas varia não apenas entre espécies, mas também entre indivíduos dentro de uma espécie e entre ejaculados do mesmo animal (GARNER, HAFEZ, 1995; HAFEZ, HAFEZ, 2004).

O plasma seminal é uma secreção composta proveniente de uma série de fontes, incluindo os testículos, os epidídimos e as glândulas acessórias do macho, é um fluido isotônico e neutro, rico em numerosas substâncias, entre elas: frutose, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido glutâmico, inositol, sódio, potássio, cálcio, fosfolipídios, prostaglandinas, proteínas e serve para proteger e nutrir o espermatozoide. É o responsável por proporcionar boas condições de manutenção na motilidade, sobrevivência e transporte dos espermatozoides, no trato genital masculino e feminino.

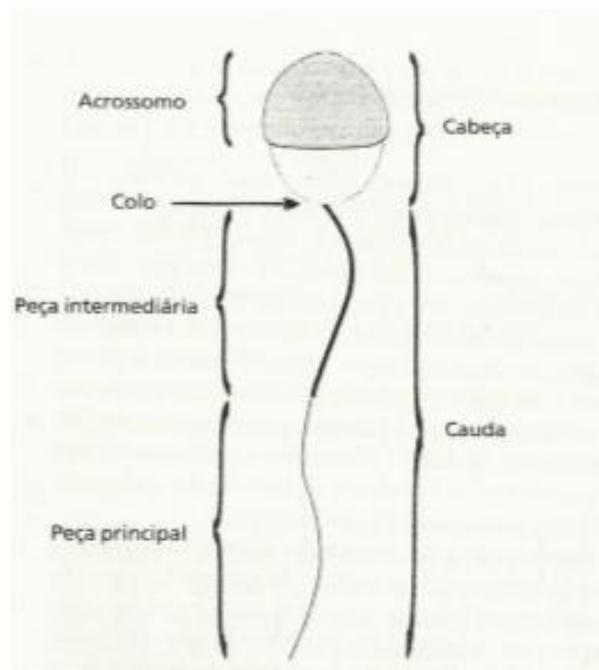


fonte: HAFEZ E HAFEZ, 2004

Figura 4: Órgãos responsáveis pela formação do plasma seminal.

O espermatozoide (Figura 5) é formado por uma cabeça achatada com seu núcleo e capuchão acrossômico, uma cauda, que é o aparelho necessário para a motilidade celular, a qual é dividida em peça intermediária e peça principal (AISEN, VENTURINO, 2008).

São células haploides as quais apresentam apenas um conjunto de cromossomos, diferentes entre si, altamente especializadas, desenvolvem sua habilidade inicial de fertilizar os oócitos durante seu transporte ao longo do epidídimo, sua formação ocorre no interior dos túbulos seminíferos, onde contém uma série complexa de células germinativas, que posteriormente se transformaram em células altamente especializadas, os gametas masculinos (GLARNER; HAFEZ, 2004). Sua principal função é transportar até o oócito as informações genéticas de sua espécie (HAFEZ, HAFEZ, 2004; AISEN, VENTURINO, 2008). Sua capacidade fertilizante é condicionada a passagem pela capacitação antes que possam penetrar no óvulo (HAFEZ, HAFEZ, 2004).



Fonte: AISEN E VENTURINO (2008)

Figura 5: Representação da célula espermática dividida em partes.

As avaliações seminais comumente utilizadas em laboratórios de análise seminal são: volume seminal, aspecto, concentração espermática, motilidade individual progressiva (MIP), vigor e morfologia espermática.

3.1 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

A cor e odor do sêmen de caprinos é bem característica. O volume é expresso em mililitros (mL) e é bastante suscetível às variações, dependendo do método de colheita, da espécie animal, do regime de serviços anterior à colheita, tempo de excitação, entre outros. As características do sêmen caprino variam e podem apresentar-se: volume de 0,5 a 1,5 (0,8); cor amarela; aspecto, leitoso ou cremoso; o total de espermatozoides por ejaculado (bilhões) de 1 a 7,5 (2); pH, 6 a 7; motilidade, 80%; vigor (0 a 5), 3; espermatozoides normais, 80 a 90; viáveis (pós vital), 80 (MAIA et al., 2010). Ainda sobre, Mies Filho (1987), afirma que o sêmen dos animais pode apresentar-se com aspecto aquoso, turvo, leitoso - espesso ou cremoso, com variações desde o cremoso espesso ao cremoso fino.

3.2 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA

A concentração espermática é determinada por espectrofotometria, microscópio ou por contagem em câmara de Newbawer. A concentração espermática que é o número de células espermáticas por unidade de volume é expressa em espermatozoides /mL.

De acordo com Mies Filho (1987), a concentração de espermatozoides por centímetro cúbico na espécie caprina varia de 1.000.000 a 5.000.000 sptz/mL, sendo a média 3.000.000. Já Hafez; Hafez, (2004) apresentaram a concentração variando de 2.000.000 a 6.000.000 sptz/mL.

Segundo Mies Filho (1987), a motilidade é uma das principais características que devem ser levada em conta no exame do sêmen, para avaliação de sua capacidade fecundante. Os movimentos dos espermatozoides não obedecem a um padrão único: há elementos que se deslocam para frente, em linha reta (movimento progressivo), outros que descrevem uma circunferência (movimento circular) e outros, ainda, se limitam a oscilar no campo microscópico (movimento oscilatório ou local). Quando a porcentagem desses espermatozoides móveis não representar a proporção de espermatozoides com

motilidade progressiva, os valores de motilidade deverão ser expressos separadamente como motilidade total e progressiva individual (CBRA, 2013).

O vigor é a característica que representa a força do movimento que acaba influenciando a velocidade com que os espermatozoides se movimentam. Esta é classificada em escala de 0 a 5, onde 0 é a ausência de movimento progressivo com o deslocamento lateral de cauda fraco e inexpressivo e 5 resulta em movimento vigoroso e veloz dos espermatozoides, geralmente progressivo (CBRA, 2013). A tabela 1 demonstra a correlação destas informações quanto a cor e consistência do sêmen caprino.

Tabela 1: Concentração do sêmen caprino correlacionado por sua cor e consistência.

Valor	Cor/ consistência	Concentração espermática (10^9 /mL)	
		Média	Variação
0	Aquoso		Insignificante
1	Turvo	0,7	0,3-1,0
2	Leitoso	2,0	1,0-2,5
3	Cre moso fino	3,0	2,3-3,5
4	Cre moso	4,0	3,5-4,5
5	Cre moso espesso	5,0	4,5-6,0

Fonte: CBRA, adaptado de Evans e Maxwell (1990)

O movimento em massa microscópico ou turbilhonamento de espermatozoides no plasma seminal, assemelha-se a ondas do mar e pode receber notas que variam de 0 (sem movimentos) a 5 (movimentos muito fortes). Para ser considerado bom deve ser classificado com nota mínima de 3 (GONZALES, et al. 2002). Para fazer a avaliação do turbilhonamento, deve-se colocar uma gota de sêmen puro (sem diluir) em uma lâmina limpa e aquecida a 37°C (BETINI, et al. 1998). Observam-se as ondas características, sem lamínula (40 ou 100 X), no bordo da gota (AISEN, 2008).

A Motilidade Individual progressiva (MIP), que se assemelha ao movimento em flecha de cada espermatozoide (GONÇALVES, et al. 2001). Para a determinação da MIP coloca-se uma gota de diluente isotônico e uma pequena gota de sêmen fresco em uma lâmina a 37°C (AISEN, 2008).

O vigor ao mesmo tempo em que determina a porcentagem de motilidade espermática pode-se aferir o tipo de movimento ou vigor (AISEN, 2008). O mesmo é classificado numa escala de 0 a 5 pontos (tabela 2).

Tabela 2. Escala de vigor espermático.

Valor	Características
0	Espermatozoides imóveis ou mortos
1	Espermatozoides sem movimento progressivo, girando sobre si mesmo.
2	Espermatozoides com movimento anormal ou eventual progressivo
3	Espermatozoides com movimento progressivo lento e sinuoso
4	Espermatozoides com movimento progressivo muito rápido
5	Espermatozoides com movimentos progressivo e enérgico

Fonte: CBRA adaptado de AISEN (2008).

Valores mais elevados indicam sêmen de melhor qualidade (BETINI, et al. 1998).

O índice de sobrevivência, segundo Betini, et al. (1998), é outro critério que faz parte da análise do sêmen, determinado em microscópio óptico de contraste de fase em 40X, a partir de esfregaço feito com mistura de uma gota de eosina vermelha a 3 %, uma gota de nigrosina a 5% e uma gota de sêmen; homogeneizar a mistura por 30 segundos; colocar uma gota dessa mistura na lâmina, e preparar um esfregaço que após a secagem será levado no microscópio em 40X. Para determinar o valor desses índices, deve-se contar 100 espermatozoides entre corados e não corados, onde os brancos serão os sobreviventes, dividir as células brancas pelo total e multiplicá-las por 100, correspondente à prova de contagem de vivos e mortos expresso em porcentagem (%).

3.3 LEUCÓCITOS NO SÊMEN

Em humanos, a World Health Organization – WHO (Organização Mundial de Saúde - OMS) (2010) recomenda um valor menor ou igual à 1×10^6 como valor aceitável da presença de leucócitos por mL, no ejaculado de humanos.

Em caprinos, os fatores que interferem na presença dos Lentivirus Caprinos (LVC) no sêmen são pouco conhecidos, a exemplo o CAEV, porém como os lentivírus infectam monócitos e macrófagos (NASH et al., 1995), sendo que a presença de inflamações ou infecções no órgão reprodutor poderia aumentar o maior fluxo destas células inflamatórias, resultando em aumento da carga viral no sêmen (ANDRIOLI, 2006).

Os macrófagos são células derivadas dos monócitos sanguíneos, que por sua vez são derivado de células do sistema hematopoiético da medula óssea (FELDMAN et al., 2000) e assim como os macrófagos são células do sistema reticulo endotelial por apresentarem característica fagocíticas (TIZARD, 1998; FELDMAN et al., 2000; KERR, 2003).

Os monócitos são as maiores células dentre os leucócitos circulantes (KERR, 2003; GORDON, 2007). São caracterizados por apresentarem núcleo alongado e com contornos irregulares (figura 7) (TIZARD, 1998; KERR, 2003; FELDMAN et al., 2000). As características morfológicas, citoquímicas e metabólicas são dependentes da maturidade dos monócitos, local de origem, condições ambientais e grau de estimulação. Já os macrófagos geralmente são ovais, possuem núcleo alongado ou arredondado e nucléolo proeminente (TIZARD, 1998).

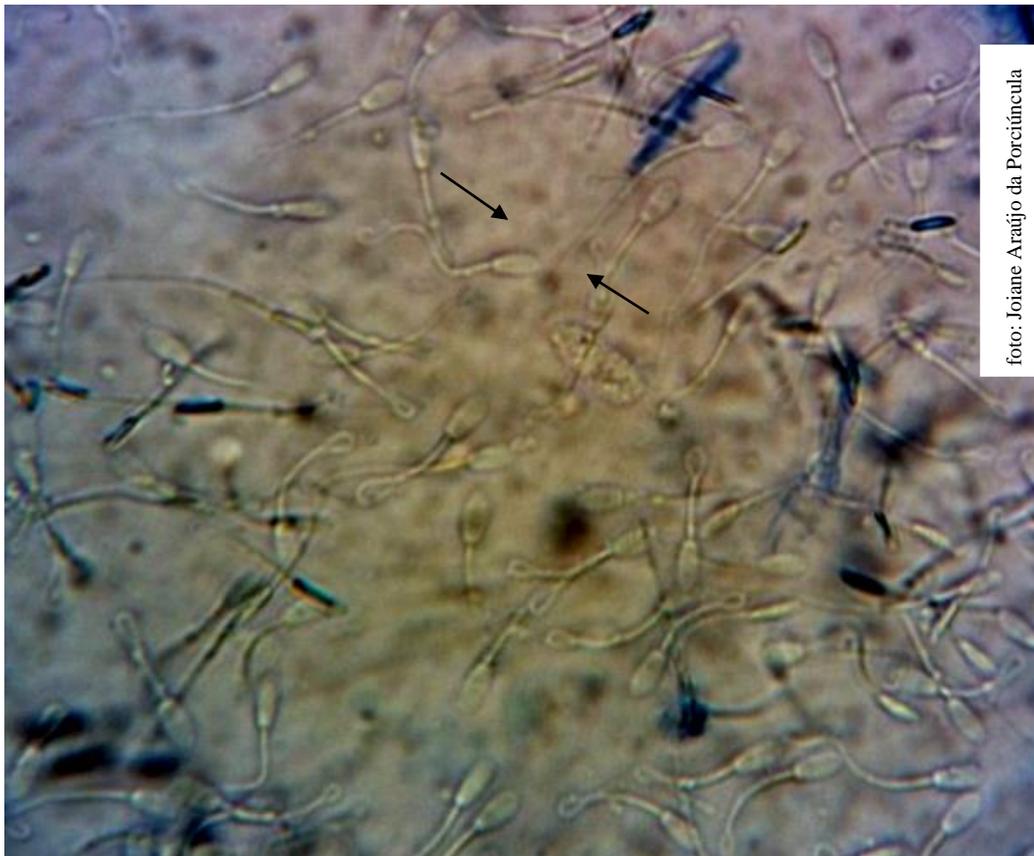


foto: Joiane Araújo da Porciúncula

Figura 6: Monócito presente no sêmen de caprinos soropositivos para CAE, corado com líquido Thomas.

Os monócitos e macrófagos apresentam receptores para glicocorticoides e hormônios como a insulina, glucagon e tirotrpin. Estes receptores podem ser alterados por procedimentos *in vitro*, por doença ou por terapia (FELDMAN et al., 2000; GORDON, 2007).

Os monócitos são os responsáveis pela eliminação de microorganismos intracelulares (KERR, 2003; FELDMAN et al, 2000), frente a doenças causadas por vírus, levam a produção de interferon pelas células do sistema mononuclear fagocitico e são também responsáveis pela degradação do complexo antígeno -anticorpo (FELDMAN et al., 2000; PENG et al., 2007)

Segundo Andrioli et al., (2006), já houve a detecção da presença do lentivírus ovino no sêmen de carneiros, infectados por *Brucella ovis*, onde a presença de leucócitos foi constatada nos ejaculados de todos os animais. Sanches (2008) verificou que a CAE interfere na imunidade inata dos animais, uma vez que houve um aumento da intensidade de fagocitose dos macrófagos e aumento no número de monócitos realizando a fagocitose quando o animal estava com Linfadenite Caseosa.

Andrioli et al., (2006), afirma que as lavagens seminais e o dano testiculares são fatores que influenciam significativamente a presença do LVC, no sêmen. Através do auxílio de exames de sangue pode-se constatar a infecção local causada pelo dano testicular, podendo ser observado que houve pequeno aumento do número de leucócitos, principalmente neutrófilos, o que indica um processo inflamatório, característico de infecção local.

4. GLICOCORTICOIDES

Estudos mostram que os glicocorticoides apresentam potente efeito anti-inflamatório e imunossupressor, sendo que os glicocorticoides sintéticos possuem essa mesma atividade ampliada. Os glicocorticoides são capazes de bloquear desde as manifestações mais precoces do processo inflamatório como dor, calor e rubor, até as mais tardias, como a reparação e proliferação tecidual (SPINOSA et al., 2011).

Como o CAEV infecta os monócitos e macrófagos, que também são sensíveis aos efeitos inibitórios dos glicocorticoides interferindo na sua habilidade de fagocitar e eliminar organismos invasores. É possível optar por corticoides de ação mais rápida e por via intravenosa, como fosfato sódico de Dexametasona. A imunidade celular também é afetada pelo fato de os glicocorticoides interferirem na apresentação dos antígenos aos receptores de membrana dos monócitos fagocitários (SPINOSA et al., 2011).

Estes mesmos autores relatam que em altas doses, a corticoterapia é capaz de reduzir de forma moderada as concentrações séricas de imunoglobulinas, apontando para um efeito também sobre os linfócitos B. A monocitopenia observada leva a alterações significativas nas funções de monócitos-macrófagos, com supressão da atividade bactericida destas células fagocíticas e diminuindo, assim, a resistência do hospedeiro à infecção. Os glicocorticoides também reduzem a função de apresentação de antígenos destas células, além de reduzirem outras funções específicas, tais como a inflamação. No entanto, a natureza exata da ação dos glicocorticoides em animais domésticos não está totalmente elucidada.

A Dexametasona é um fármaco sintético inserido no grupo dos glicocorticoides e possui, inúmeras atividades, sendo um potente anti-inflamatório esferoidal de longa ação. Possui também efeito imunossupressor, apesar de apresentar benefícios, este fármaco

causa efeitos colaterais, caso seja administrado por longos períodos. Já em períodos menores esse efeito é minimizado, haja visto que a Dexametasona, por efeito da retroalimentação negativa, chega ao hipotálamo e à adeno-hipofise e inibe a produção de Hormônio Liberador de Corticotrófina (CTRH) e do Hormônio Adrenocorticotrófico (ACTH).

Há controvérsias em relação à atrofia da região cortical da adrenal em pacientes submetidos à terapêutica curta com Dexametasona, por 3 a 7 dias, em casos agudos, bem como a recomendação da retirada gradual ou abrupta da droga nesse programa (ROSA 2013)

Segundo Horn et al., (1999), a Dexametasona causou uma degeneração testicular leve em touros, com alterações de todas as características mensuradas no sêmen dos animais tratados, comprometendo a espermatogênese e o tempo de recuperação por um período de 58 dias. Por outro lado, a observação de alguns defeitos espermáticos, em momentos distintos, indicam peculiaridades na espermatogênese, que devem ser melhor investigadas através de estudos que identifiquem a origem e local de reabsorção/seleção destes defeitos ao longo do epitélio seminífero e dutos excretores.

Existe ainda uma carência de informações sobre seus efeitos na reprodução, principalmente relacionadas a machos, justificando a necessidade de desenvolvimento de pesquisas principalmente no aspecto da morfo-funcionalidade testicular (ROSA, 2013).

5. DIAGNOSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico precoce da doença é de extrema importância, pois os sinais clínicos podem demorar meses ou até anos para se manifestar, como pode ocorrer do animal ficar no rebanho até sua morte sem nenhuma sintomatologia clínica visível, ou ser confundida com outras doenças. Desta forma, torna-se imprescindível o uso de diagnóstico laboratorial (ABREU et al., 1998).

Segundo Pinheiro et al. (2001), o diagnóstico laboratorial pode ser realizado por exames indiretos que se baseiam na detecção da presença de anticorpos por técnicas imunossorológicas, além de exames diretos pela detecção do vírus em sua forma livre (RNA) ou sua forma integrada a célula hospedeira (DNA pró-viral).

Dentre os testes mais confiáveis está a imunodifusão em gel de ágar (IDGA) que baseia-se na detecção de anticorpos contra o antígeno viral. Essa detecção ocorre através da difusão do anticorpo presente no soro do animal, em um meio semi-sólido (ágar-gel), com a formação de uma linha de precipitação visível a olho nu, que ocorre quando o anticorpo encontra com o antígeno formando com este um complexo insolúvel específico (MOTTA, 2007). A desvantagem desse teste é que ele necessita de um nível determinado de anticorpos, de forma que se o mesmo estiver abaixo do detectável o animal apresentará resultado falso negativo ao teste (ANDRIOLI et al., 2006).

No Brasil, o Plano Nacional de Vigilância e Controle de Lentivirose de Pequenos Ruminantes (PNVCLVPR), que integra o Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos (PNSCO) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2004), preconiza o uso da imunodifusão em gel de ágar (IDGA) como teste diagnóstico para LVPR.

Outro teste é o Western Blot (WB) que segundo Souza (2014), baseia-se na detecção de pequenas quantidades de proteínas imobilizadas numa membrana de nitrocelulose pela reação com anticorpo específicos para o antígeno. De acordo com Pinheiro (2001), esse teste apresenta como vantagem a menor ocorrência de reações inespecíficas, o que reduz o aparecimento de resultados falso positivos, além de poder ser aplicado em amostras de soro sanguíneo ou outras secreções que possuam os anticorpos específicos. De acordo com Pinheiro et al. (2010), o WB é mais sensível que o IDGA na detecção de anticorpos contra o CAEV.

5.1 WESTERN BLOT

O Western blot (WB) também conhecido como protein blotting ou immuno blotting, é um poderoso e importante método em biologia molecular utilizado para imunodetecção de proteínas após a separação destas por eletroforese em gel e transferência para membrana adsorvente (KURIEN E SCOFIELD, 2006).

Esta técnica permite detectar, caracterizar e quantificar múltiplas proteínas, principalmente aquelas que estão em baixas quantidades em determinada amostra (KURIEN E SCOLFELD, 2006). WB evoluiu da técnica de DNA (Southern) blotting e

RNA (NORTHERN) blotting. A denominação WB ao procedimento modificado superficialmente a partir da técnica proposta por Towbin e seus colaboradores, e foi dada a fim de manter a nomenclatura geográfica tradicional destes métodos, iniciado pelo Southern blotting (KURIEN E SCOLFIELD, 2006).

A técnica de WB oferece as seguintes vantagens: membranas úmidas são maleáveis e de fácil manuseio; as proteínas imobilizadas na membrana são rapidamente e uniformemente acessíveis a diferentes ligantes; somente uma pequena quantidade de reagentes é necessária para a análise de transferência; é possível fazer múltiplas réplicas do gel; o armazenamento da amostra transferida pode ser prolongado, antes de ser usada e a mesma proteína transferida pode ser usada para múltiplas análises sucessivas (KURIEN E SCOFIELD, 2006). Além disso, em estudos relacionados à detecção de anticorpos e proteínas de agentes infecciosos, este método é considerado altamente sensível e específico, sendo o método de eleição para diagnóstico de inúmeras doenças dos animais (COOLEY et al., 2001; TALMI-FRANK et al., 2006). Desde seu início, protein blotting tem evoluído constantemente e agora a comunidade científica está diante de múltiplos caminhos e significados da transferência e detecção de proteínas.

O protocolo básico de WB pode ser resumido nos seguintes passos: preparação das amostras e fracionamento de proteínas, execução da eletroforese em gel, transferência das proteínas separadas do gel para uma membrana adsorvente, bloqueio de ligações inespecíficas, adição de anticorpo específico e detecção da reação.

A identificação de anticorpos anti-CAEV através do WB, no soro sanguíneo comprova a sensibilidade do teste em detectar animais positivos ao vírus.

No Brasil, utiliza-se principalmente o IDGA, geralmente com antígenos importados (CUNHA E NASCIMENTO, 1995). Testes mais sensíveis que o IDGA, como o ELISA e “Western Blot” são utilizados em países europeus que possuem programas de erradicação ou de controle da infecção com o estabelecimento de propriedades livres. Embora apresentem maior sensibilidade, esses testes podem não ser definitivos na eliminação de todos os animais infectados. Alguns animais podem apresentar soroconversão tardia (RIMSTAD et al., 1994), o que permitiria a disseminação do vírus no rebanho. Nesses casos, a técnica de PCR poderia ser indicada para a detecção do DNA pro-viral.

5.2 REAÇÃO DE CADEIA EM POLIMERASE (PCR)

A técnica da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) se baseia na amplificação enzimática, de um fragmento de DNA específico pela extensão de oligonucleotídeos (*primers* ou iniciadores) que hibridam com as fitas complementares da sequência alvo e após vários ciclos, o fragmento limitado pelos iniciadores, é multiplicado de forma exponencial, de forma a serem detectáveis em géis de agarose submetidos à eletroforese pela coloração com brometo de etídio (CARVALHO et al., 2010).

A técnica é uma opção para verificar a presença ou ausência do CAEV nas partidas seminais, é a associação dos testes de *Nested* PCR e RT-*Nested* PCR que identificam, respectivamente o DNA pró-viral e o vírus em sua forma livre, RNA (ÁVILA et al. 2015).

A PCR apresenta alta sensibilidade e especificidade para amplificação do ácido nucléico viral, o que garante uma maior segurança para o diagnóstico do CAEV (RIET CORRÊA, 2001). A vantagem dessa técnica é que ela é capaz de identificar pequenas quantidades de DNA viral presentes no material, além de microorganismos em estado de latência ou integrados ao genoma do hospedeiro ou mesmo microorganismos mortos (ANDRIOLI et al., 2006).

Diversos protocolos têm sido desenvolvidos para o diagnóstico das LVPR, sendo que esses protocolos variam de acordo com o que se objetiva detectar o RNA genômico viral pela transcrição reversa (RT-PCR) ou o DNA pró-viral utilizando diferentes metodologias (SIDER et al., 2010; ANDRIOLI et al. 2006), sendo que diversos autores já utilizaram a técnica da PCR para demonstrar a presença do CAEV em amostras teciduais, no sêmen e sangue (ANDRIOLI et al., 2006 e PETERSON et al., 2008), além de fluidos uterinos de cabras infectas pelo vírus (ANDRIOLI, 2001).

Ainda Andrioli (2001) relata que a detecção do DNA pró-viral do CAEV no sêmen é de grande importância para os programas de controle da CAE, levando em consideração o risco que os animais correm com a transmissão através dos reprodutores tanto pela monta natural quanto pela inseminação artificial, já que esta, do mesmo modo que apresenta um risco, menor apesar que a monta natural apresenta grande potencial de disseminação, visto que o vírus está presente tanto no sêmen lavado criopreservado ou não.

Embora a PCR identifique animais portadores dos lentivírus caprinos antes da soroconversão ou seja, na infecção aguda, tem-se relatado que após a soroconversão, a PCR no sangue apresenta-se menos sensível que outros testes sorológicos, como o WB. Dessa forma, existe a recomendação de utilizar a associação dos dois testes em programas de monitoramento e controle da enfermidade (DE ANDRÉS et al., 2005; ANDRIOLI et al., 2006).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, S. R. O.; ROBERTO, S.; NASCIMENTO, S. A.; SOUZA, M. G. Produção de antígeno nucleoprotéico do vírus da artrite encefalite caprina e comparação com o vírus Maedi-Visna para utilização em teste de imunodifusão em Agar gel. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.18, n. 2, p. 57-60, 1998.
- ADAMS, D.S.; CRAWFORD, T. CAE: A viral arthritis encephalitis syndrome. Institute Goat Sheep Research,[S.I.], v.1, n.2, p.168-172, 1980.
- ADAMS, D. S.; KLEVJER-ANDERSON, P. R.; CARLSON, J. L. McGUIRE, T. C.;GORHAM, J. R.. Transmission and control of caprine arthritis-encephalitis virus. **American Journal of Veterinary**, v. 44, n. 9, p. 1670-1675, 1983.
- AISEN, E.G.; VENTURINO, A. Coleta e avaliação do sêmen. In: AISEN, E.G. (Ed.). Reprodução ovina e caprina. 1.ed. São Paulo: Medvet, p.57-73, 2008.
- ALI AL AHMAD, M.Z.; FIENI, F.; MARTIGNAT, CHATAGNON, L. G., BARIL, G., BOUVIER, F., CHEBLOUNE, Y. Proviral DNA of caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) is detected in cumulus oophorus cells but not in oocytes from naturally infected goats. *Theriogenology*, 64, 1656-1666, 2005.
- ALI AL AHMAD, M. Z. FIENI, F. PELLERIN, J. L. GUIGUEN, F. CHEREL, Y. CHATAGNON, G. BOUZAR, A. B. CHEBLOUNE, Y. Detection of viral genomes of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in semen and in genital tract tissues of male goat. **Theriogenology**, v. 69, p. 473-480, 2007.
- ALMEIDA, N. C. Isolamento e identificação dos vírus Maedi-Visna através de microscopia eletrônica de transmissão de animal comprovadamente soropositivo pelo IDGA. Fortaleza, 2003. 68p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de veterinária, Universidade Estadual do Ceará.
- ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A. M. G.; PINHEIRO, R. R.; ROCHA, M. A.; MARTINS, A.; SANTOS, D. O. Detecção do DNA pro-viral do lentivírus caprino em sêmen de bodes naturalmente infectados. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 23, n. 3, p. 420 - 421, 1999.
- ANDRIOLI, A. Vírus da artrite encefalite caprina: PCR e isolamento em amostras de sêmen, fluido uterino e embriões. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva) Belo Horizonte: UFMG, 2001.
- ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A. M. G.; SOBRINHO-MOURA, P. A.; PINHEIRO, R. R.; SALLES, H. O. Transferência de embriões em cabras naturalmente infectadas pelo lentivírus caprino. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 24, n. 5, p. 215- 220, 2002.
- 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**, Brasília, v. 41, n. 8, p. 1313 - 1319, 2006.

ANDRIOLI, A.; SOUZA, K. C.; PINHEIRO, R. R.; SOUSA, F. M. L.. Protocolos para extração do DNA pró-viral e . Protocolos para extração do DNA pró-viral e PCR do lentivírus caprinos em sangue. Sobral: Embrapa Caprinos, 2006b. 5 p. (Embrapa Caprinos. Comunicado Técnico, 72). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPC/20248/1/cot72.pdf>>. Acesso em: 02 ago. 2015.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Acesso em <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home>>. Acessado em: 09/08/2015.

ARRUDA, R.P.; CELEGHINI, E.C.C.; ALONSO, M.A.; CARVALHO, H.F.; OLIVEIRA, L.Z.; NASCIMENTO, J.; SILVA, D.F.; AFFONSO, F.J.; LEMES, K.M.; JAIMES, J.D. Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.2, p.145-151, 2011.

ÁVILA, A.A. Uso da Técnica de SWIM-UP para a remoção do vírus da Artrite Encefalite Caprina e obtenção de espermatozoides viáveis. 2013 xxxf. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Vale do Acaraú - UVA Sobral.

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**. 180(3):399-401. 2008.

BETINI, C.M.; MORAES, G.V.; RIGOLON. Efeito da congelação vertical e horizontal na qualidade do sêmen caprino. **Acta Scientiarum**, v. 20, n. 3, p. 361-5, 1998.

BIELANSKI, A.; DUBUC, C.; HARE, W.C.D. Failure to remove bovine diarrhoea virus (BVDV) from bull semen by swim-up and other separatory sperm techniques associated with *in vitro* fertilization. **Reproduction in Domestic Animals**, v.27, p.303-306, 1992.

BLACKLAWS, B.A., BERRIATUA, E., TORSTEINSDOTTIR, S., WATT, N.J., de ANDRES, D., KLEIN, D., HARKISS, G.D., 2004. Transmission of small ruminant lentiviruses. **Veterinary Microbiology**. 101, 199–208.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 103, de 07 de dezembro de 2004. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>>. Acesso em 10 agosto 2015.

CARVALHO, C.V.; RICCI, G.; LEAL, M.F.; AFONSO, R. Reação em cadeia de polimerase (PCR) e eletroforese. In: CARVALHO, C.V.; RICCI, G.; LEAL, M.F.; AFONSO, R. (Ed.). Guia de práticas em biologia molecular. 1.ed. São Caetano do Sul: Yendis, p.35-60. 2010.

CASTRO, R.S. Efeito da CAE (Artrite Encefalite Caprina) na saúde e produtividade de cabras leiteiras. Disponível em: <<http://www.caprtec.com.br/art14html>> Acesso em 16 de julho de 2015.

CLEMENTES, J. E.; PAYNE, S. L. Molecular basis of the pathobiology of lentiviruses. **Virus Research**, v. 32, p. 97-109, 1994.

CBRA - COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2.ed. Belo Horizonte, CBRA, 2013.

COOLEY W.A., CLARK J.K., RYDER S.J., DAVIS L.A., FARRELLY S.S.J.; STACK M.J. Evaluation of a Rapid Western Immunoblotting Procedure for the Diagnosis of Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) in the UK. **Journal of Comparative Pathology**. Edinburgh. v.125, n.1, p.64-70, 2001.

CORK L.C.; HADLOW, W.J.; CRAWFORD, T.B.; GORHAM, J.R.; PIPER, R.C. Infections leuko encephalomyelitis of young goats. **J Inf Dis**, v. 129, pp. 134–141, 1974.

CRAWFORD, T.B., ADAMS, D.S., CHEEVERS, W.P., CORK, L.C., Chronic arthritis in goats caused by a retrovirus. **Science** n. 207, p. 997–999, 1980.

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

CUNHA R.G. E 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**. 17(2):72, 1995.

DE ANDRES, D.; KLEIN, D.; WATT, N. J.; BERRIATUA, E.; TORSTEINSDOTTIR, S.; BLACKLAWS, B. A.; HARKISS, G. D. Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. **Veterinary Microbiology**, v. 25. n. 107, p. 49-62, 2005.

DE LA CONCHA-BERMEJILLO, A.; MAGNUS-CORRAL, S.; BRODIE, S. J.; DeMARTINI, J. C. Venereal shedding of ovine lentivirus in infected rams. *American Journal of Veterinary Research*, v. 57, n. 5, p. 684-688, 1996.

EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. Inseminação artificial de ovelhas y cabras. Zagarosa: Editorial Acribia, 149 p. 1990.

FEITOSA, A. L. V. L. Análise filogenética de lentivírus de pequenos ruminantes isolados do Ceará. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará. p.84, 2007.

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

FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G. JAIN, N. C. 5 ed. philadelphia: lippincott williams and wilkins, **Schalm's veterinary hematology**, p.1344, 2000.

FIENI, F.; ROWE, J.; VAN HOOSER, K.; BURUOCA, C.; OPPENHEIM, S.; ANDERSON, G.; MURRAY, J.; BONDURANT, R. Presence of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) proviral DNA in genital tract tissues of superovulated dairy goat does. **Theriogenology**, v. 59, p. 1515-1523, 2003.

- FITTERMAN, I.R. Constatação de complexo artrite-encefalite em um plantel de caprinos no Estado da Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 21., 1988, Salvador. Anais. Salvador: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, p.93. 1988.
- FRENEAU, G.E. Aspectos da morfologia espermática em touros. **Revista Brasileira de reprodução animal**, v.35, n.2, p.160-170, 2011.
- GARNER, D. L.; HAFEZ, E. S. E. Espermatozóide e plasma seminal. In: HAFEZ, E. S. E. Reprodução Animal, 6 ed. Ed. Manole, p. 167-190, 1995.
- GONÇALVES, P. B.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. de F.; Biotécnica aplicada à reprodução animal. São Paulo: Varela, p. 15-23; 57-65; 111-23, cap. 2, 4 e 7, 2001.
- GONDA, M. A. Molecular biology and vírus-host interations of lentiruses. Ann New York Academy of Sciences, v. 724, p. 22-42, 1994.
- GONZALES, I. M; SOARES, A. T; GOMES, M.G.G.; SOUSA, W. H.; de. Reprodução assistida em caprinos. Paraíba. 11-42, Set. 2002
- GORDON, S. The macrophage: past, presente and the future. **European Journal of Immunology**, v.37, p. S9-17, 2007.
- GUPTA, P.; C. LEROUX; B. K. PATTERSON; L. KINGSLEY; C. RINALDO; M. DING; Y. CHEN; K. KULKA; W. BUCHANAN; B. MCKEON; R. MONTELARO. Human immunodeficiency virus type 1 shedding pattern in semen correlates with the compartmentalization of viral Quasi species between blood and semen. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 182, n. 1, p. 79-87, 2000.
- HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. Reprodução animal. São Paulo: Manole, p. 513, 2004.
- HANSEN,P.J. Imunologia da reprodução. In: HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. (Ed.). **Reprodução Animal**. 7.ed. Kiawah Island: Manole, p.345 -357, 2004.
- HERRMANN-HOESING, L. M., PALMER, G. H., KNOWLES, D. P. Evidence of proviral clearance following postpartum transmission of an ovine lentivirus. **Virology** 362, 226–234, 2007.
- HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 411 - 424, 2003.
- HORN, M. M.; MORAES J. C. F.; GALINA, C. S. Qualidade do sêmen de touros das raças Aberdeen Angus e Brangus-Ibagé em frente à degeneração testicular experimental induzida por Dexametasona. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 3, p. 523-526, 1999.
- 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**. 26:1175-1179, 1993.
- HUSO, L.D., NARAYAN, O., HART, W.G. Sialic acids on the surface of caprine arthritis- encephalitis virus define the biological properties of the virus. **Journal Virology**., v.62, p.1974-1980, 1988.

ICVT. International Committee on Taxonomy of Viruses. Disponível em: http://www.ictvonline.org/taxonomyHistory.asp?taxnode_id=20143640&taxa_name=Caprine%20arthritis%20encephalitis%20virus> Acesso em 17 de agosto de 2015

JAMEEL, T. Sperm swim-up: a simple and effective technique of semen processing for intrauterine insemination. **Journal of the Pakistan Medical Association**, v.58, n.2, p. 71-74, 2008.

JOAG, S. V., STEPHENS, E. B, NARAYAN, O. Lentivíroses. In: FIELDS, M. D.; KNIPE, D. M. *Fields Virology*, 3th ed. New York: Raven Press, 1996. p.1977-1996.

KERR, M. G. Exames laboratoriais em medicina veterinária. 2 ed. São Paulo: Rocca, 436 p. 2003.

KURIEN, B. T.; SCOFIELD, R. H. Western blotting. **Methods**. San Diego. v.38, p.283-293, 2006.

LAGERLOF N. Morphologische Untersuchungen über Verändern der Spermabildung und in den Hoden bei Bullen mit verminderter oder aufgehobener Fertilität. **Acta Pathol Microbiol Scand**, v.1, p.254, 1934

LARA, M. C. C. S. H.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; FERNANDES, M. A.; BIRGEL, E. H. Infecção experimental do vírus da artrite-encefalite dos caprinos em cabritos. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 70, n. 1, p. 512-54, 2003.

LARA, M. C. C. S. H.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; BIRGEL, E. H. Possibility of vertical transmission of Caprine Arthritis-Encephalitis Virus in neonate kids. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 4, p. 553 - 555, 2005.

LE TORTOREC, A.; N. DEJUCQ RAINSFORD. The male genital tract: A host for HIV. **Gynecology Obstetrics Fertility**, v. 35, n. 12, p. 1245-50, 2007.

LIMA C.C.V. Inquérito soropidemiológico da artrite-encefalite caprina na Microrregião de Juazeiro-Bahia e comparação de técnicas imunodiagnósticas. Dissertação de Mestrado, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador. 87f. 2012.

MAIA, Marciane da Silva. Tecnologia do sêmen e inseminação artificial em caprinos e ovinos. Natal: EMPARN, XXp.; v.13, il. (Circuito de tecnologias adaptadas para a agricultura familiar; 7) , 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**. 2011.

MARTÍ, E.; PÉREZ-PÉ, R.; MUIÑO-BLANCO, T.; CEBRIÁN-PÉREZ J.A. Comparative study of four different sperm washing methods using apoptotic markers in ram spermatozoa. **Journal of Andrology**, v.27, n.6, p.746-753, 2006.

MELO A.C.M. E 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*. 27(1):113-117, 1997.

MIES FILHO, A. Reprodução dos Animais. Porto Alegre: Sulina. 1987.

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**. 14:77-78. 1986.

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**. 29(2):51-53, 2007.

MOTTA A.S.; CANNAVAN FS, TSAI SM, BRANDELLI A. Characterization of a broad range antibacterial substance from a new *Bacillus* species isolated from Amazon basin. **Archive Microbiology**.;188:367–375. 2007

NARAYAN, O. Slow virus replication: the role of macrophages in the persistence and expression of visna virus of sheep and goats. **Journal of General Virology**, v. 59, n. 2, p. 345-56, 1982.

NASCIMENTO, C.B.; PINHEIRO, R.R.; ALVES, F.S.F.; BRITO, R.L.L de.; RODRIGUES, A. de S.; SILVA, R.A.B. e.; PAULA, N.R. de.O.; BATISTA, M. do. C. de. S.; Ferramentas diagnosticas de lentivirose de pequenos ruminantes: Padronização da técnica de ELISA indireto. **Arquivo do Instituto de Biologia**, v.81, n.1, p. 9-15, 2014.

NASH, J.W.; HANSON, L.A.; COATS, K.C. Bovine immunodeficiency virus in stud bull semen. **American Journal of Veterinary Research**, v.56, p.760-763, 1995.

OLIVEIRA, M.M.O.; CASTRO, R.S.; MELO, M.A. *Western Blot* para diagnóstico de lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR), usando protocolo simples para obtenção de antígeno. 2007.

PAULA, N. R. O; ANDRIOLI, A.; CARDOSO, JFS; SOUSA, FML; SOUZA, KC; ALVES, F.S.F.; CAMPELLO, CC; RICARTE, ARF; PINHEIRO, R.R.; TEIXEIRA, MFS. Profile of the Caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in blood, semen from bucks natural lyand experimentally infected in the semi-arid region of Brazil. **Small Ruminant Research**, v. n. p. 01-10, 2009.

PÉPIN M.; VITU C.; RUSSO P.; MORNEX J.F.; PETERHANS E. Maedi-visna virus infection in sheep: a review. **Veterinary Research**. 29, 341–367. 1998.

PETERHANS, E., GREENLAND, T., BADIOLA, J., HARKISS, G., BERTONI, G., AMORENA, B., ELIASZEWICZ, M., JUSTE, R.A., KRASSNIG, R., LAFONT, J.P., LENIHAN, P., PETURSSON, G., PRITCHARD, G., THORLEY, J., VITU, C., MORNEX, J.F., PEPIN, M., Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. **Veterinary Reserch** 35, 257–274. 2004.

PINHEIRO, R. R.; EGITO, A. S., SANTA ROSA, J.; PINHEIRO, A. A. Artrite encefalite caprina viral (CAEV). Sobral, CE: EMBRAPA-CNPC, p.5, 1989. [Comunicado Técnico].

PINHEIRO, R.R., Vírus da artrite encefalite caprina: Desenvolvimento e padronização de ensaios imuno enzimáticos (ELISA e Dot-Blot) e estudo epidemiológico no Estado do Ceará. Belo Horizonte: UFMG, 115p. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 2001.

PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F.; ANDRIOLI, A. Medidas carpo-metacarpianas como índice articular clínico em caprinos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 4, p. 170 - 173, 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**. 101 (557-558):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**, São Paulo, v. 77, n. 1, p. 133-137, 2010.

PINHEIRO, R. R.; ANDRIOLI, A. Processamento de sêmen para extração de RNA genômico do vírus da artrite-encefalite caprina e diagnóstico molecular por RT-*nested* PCR. Sobral: EMBRAPA, 2011 [Comunicado Técnico].

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**. 339:147-152, 2005.

QUEIROZ, P.; TANIL, C.T.; MADASCHI, C.; LOPES, D.R.; JUNIOR, A.I.; PASCOALOTTO, F.F.; JUNIOR, E.B. Obtenção de gametas seguros por meio de associação de técnicas de processamento seminal para casais sorodiscordantes para HIV. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.30, n.4, p.171-176 2008.

RODRIGUES, A. S.; SIDER, L. H.; PAULA, N.R.O.; ÁVILA, A. A.; ANDRIOLI, Alice. Transmission of the caprine arthritis-encephalitis Virus through artificial insemination. **Small Ruminant Research**, 2013.

ROSA, A. M., Efeito da Dexametasona sobre a morfofisiológica testicular e cortical da glândula adrenal em ratos (*Ratus Norvegicus*). Dissertação apresentada ao curso de pós graduação em medicina veterinária, Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas – MG, 2013.

RICARTE, A. R. F. Avaliação da susceptibilidade de gametas e embriões caprinos ao vírus da artrite encefalite caprina. 2009. 112 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza 2009.

RIMSTAD E., EAST N., DEROCK E., HIGGINS J. E PEDERSEN N.C. Detection of antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus using recombinant gag proteins. **Archive Virology** 134(3-4):345-356. 1994.

ROWE J.D., EAST N.E. Risk factors for transmission and methods for control of caprine arthritis-encephalitisvirus infection. *VetClin North Am-Food Animal. Practitioner*, v. 13, p. 35–53, 1997.

SANCHES, B. G. S; Avaliação da função fagocíticas de células da linhagemmonocito-macrofago de caprinos naturalmente infectadospelo vírus da artrite encefalite caprina a, *Corynebacterium pseudotuberculosis* Dissertação de Mestrado, Faculdade de medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade SÃO PAULO, São paulo. 79f. 2008.

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, n. 4, p. 121-124, 1995.

SEMPRINI, A.E.; BUJAN, L.; ENGLERT, Y.; SMITH, G.; GUIBERT, J.; HOLLANDER, L.; OHL, J.; VERNAZZA, P. Establishing the safety profile of sperm washing followed by ART for the treatment of HIV discordant couples wishing to conceive. **Human Reproduction**, v.22, n.10, p. 2793 - 27934, 2007.

SIDER, L. H.; OLIVEIRA, A.N.; VERAS, A.K.A.; KADRI, S.M.; FRANCO, M. M.; SIGURDSON, B. Maedi, a slow progressive pneumonia of sheep: Na epizootological na pathological study. **British Veterinary journal**, n.110, p. 255-270, 1954.

SIGURDSON B. 1954. Rida, a chronic encephalitis of sheep. With general remarks on infections which develop slowly and some of their special characteristics. *Brit. Vet. J.* 110:341-354.

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**. 57(6):726-731, 2005.

SILVA, J. B. A. Vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) em folículos pré-antrais de cabras naturalmente infectadas. 90f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2006.

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, out/dez, 2007.

SOUZA, K. C.; ANDRIOLI, A.; TEIXEIRA, M.F.S.; Virus da artrite encefalite caprina em sêmen: diagnóstico e transmissão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.38, n.2, p.92-97, 2014.

SPINOSA, H.S.; GORNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à medicina veterinária**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

STAUFFER, C. E. Emulsifiers for the Industry, in: *Bailey's Industrial oil and fat products*, ed. Wiley-Interscience; vol. 4, (USA), 2005.

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

TALMI-FRANK, D.; STRAUSS-AYALI, D.; JAFFE, C.L.; BANETH G. Kinetics and diagnostic and prognostic potential of quantitative Western Blot analysis and antigenspecific enzyme-linked immunosorbent assay in experimental canine leishmaniasis. *Clinical and Vaccine Immunology*. **Oxford**. v.13, n.2, p. 271–276, 2006.

TIZARD, I. R. *Imunologia veterinária: uma introdução*. 6. Ed. São Paulo: Roca. 1998

TRAVASSOS, C.E.; BENOÎT, C.; VALAS, S.; SILVA, A.G.; PERRIN, G. Caprine arthritis-encephalitis virus in semen of naturally infected bucks. **Small Ruminant Research**, v.32, p.101-106, 1999.

VAN RIJN, P.; WELLENBERG, G.; HAKZE-VAN DER HONING, R.; JACOBS,L.; MOONEN, P.; FEITSMA, H. Detection of economically important viruses in boar semen by quantitative real time PCR technology. **Journal Virology Methods**, v. 120,n. 2, p.160-161, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION . WHO Laboratory Manual for the Examination and processing of Human Semen. 5th. Ed. Geneva, **World Health Organization**; 2010.

ZINK, M. C.; JOHNSON, L. K. Pathobiology of lentivirus infections of sheep and goats. **Virus Research**, v.32, n.2, p. 139-154, 1994.

CAPÍTULO 2
EMPREGO DA DEXAMETASONA EM REPRODUTORES PORTADORES DO
CAEV

RESUMO

Objetivou-se com o presente estudo verificar o efeito da Dexametasona, a propósito de o efeito do tratamento com reprodutores caprinos, sobre: o hemograma, os parâmetros reprodutivos e na detecção do DNA-proviral do CAEV no sêmen. Foram utilizados oito reprodutores, sendo quatro da raça Saanen e quatro Anglonubianos. Os animais possuíam bom estado de saúde e boa capacidade reprodutiva. Os animais foram infectados artificialmente com a titulação de CAEV- Cork de $10^{5.3}$ TCID₅₀/ml, por via intramuscular, e foram mantidos em confinamento durante todo o período do experimento. Amostras de sêmen foram colhidas antes, durante e após as aplicações de Dexametasona (Cortvet®), por vagina artificial frente a uma fêmea em estro induzido. As amostras de sêmen foram avaliadas quanto aos parâmetros reprodutivos. O tratamento com a Dexametasona consistiu na aplicação via intramuscular de 6mg/animal, a cada 24hs por três dias consecutivos. Amostras de sangue para o hemograma foram colhidas imediatamente após a coleta de sêmen, durante e após o tratamento com o glicocorticoide, ou seja, às 24, 48, 72, 96 e 1440Hs. A presença do DNA-proviral do CAEV após os tratamento foi testada pelas técnicas de PCR-*nested*. Os resultados demonstram que a Dexametasona causa uma queda temporária nos parâmetros reprodutivos, porém levou a uma diminuição do número de monócitos.

Palavras-chave: sêmen, dexametasona, hemograma, CAEV.

ABSTRACT

The objective of this study to evaluate the effect of Dexamethasone, the purpose of the treatment effect of goats on: the blood count, reproductive parameters and the detection of proviral DNA of CAEV in semen. eight players were used, four of the Saanen-four Anglonubianos race. The animals had good health and good reproductive capacity. The animals were artificially infected with titration CAEV- Cork 105,3TCID₅₀ / ml, intramuscularly, and were kept in confinement throughout the experimental period. Semen samples were collected before, during and after the application Dexamethasone (Cortvet®) by artificial vagina in front of a female induced heat. Semen samples were evaluated for reproductive parameters. Dexamethasone treatment consisted of the application intramuscular dose of 6mg / animal, every 24 hours for three consecutive days. Blood samples were collected for blood count immediately after semen collection, during and after treatment with the glucocorticoid, i.e., at 24, 48, 72, 96 and 1440Hs. The presence of CAEV proviral DNA after the treatment was tested by nested-PCR techniques. The results show that Dexamethasone cause a temporary drop in the reproductive parameters, but led to a decrease in the number of monocytes.

Keywords: semen, dexamethasone, blood count, CAEV.

INTRODUÇÃO

No Brasil, necessitamos avançar no controle de várias enfermidades que afetam os pequenos ruminantes, pois além dos problemas de manejo de forma geral, há limitações de acesso às técnicas de diagnóstico. A Artrite-encefalite caprina (CAE) é um dos maiores problemas sanitários da caprinocultura leiteira, determinando perdas econômicas diretas e indiretas, como: a diminuição da produção e da qualidade do leite (MARTÍNEZ-NAVALÓN et al. 2013), diminuição da vida útil dos animais, aumento do custo de manejo devido às medidas de controle, perda de genética, restrições sanitárias no comércio nacional de animais/germoplasma e desvalorização dos rebanhos (PINHEIRO et al., 2003).

As fontes de infecção dos LVPR são os caprinos ou ovinos infectados e seus fluidos orgânicos (SOUZA, et al., 2014), sendo que a transmissão ocorre tanto na forma vertical como horizontal. O CAEV apresenta longo período de incubação, alta ocorrência de infecção assintomática e de resultados falso-negativos pelas técnicas de diagnóstico, bem como da existência de latência viral. Ainda, não existe tratamento e nem vacina para esta enfermidade e o controle dos lentivírus. Faz-se necessário o emprego de várias medidas que alteram, oneram e dificultam o manejo dos rebanhos.

A possibilidade da transmissão do CAEV pela via venérea é crítica para o controle da doença, pois Paula et al. (2009) constataram que os reprodutores eliminam o vírus pelo sêmen, mesmo antes de soro converterem e portanto de serem diagnosticados pelos testes usuais, revelando o risco da transmissão pela monta natural e pela inseminação artificial. Assim a ocorrência desta doença em reprodutores e matrizes caprinas de alto valor genético representa um grande problema para os programas de reprodução e/ou melhoramento genético, pois levar à perda do patrimônio genético, não só pelo animal em si, mas de todo o seu potencial de descendentes.

A reprodução assistida em caprinos, como o processamento do sêmen seguida da inseminação artificial, potencializa os programas de melhoramento genético nos rebanhos. No entanto, o sêmen contaminado com agentes virais ou bacterianos torna-se um potente veículo de disseminação destes agentes, uma vez que podem infectar inúmeros rebanhos de uma região ou mesmo de vários países em curto espaço de tempo (VAN RIJN et al., 2004).

Uma possível alternativa seria o tratamento dos animais com glicocorticoides, os quais demonstraram ter ação reconhecida em todos os tecidos do organismo, no tratamento de processos inflamatório, alérgico e imuno-mediados. Possuem origem endógena ou sintética, sendo o cortisol o principal hormônio de origem endógena produzida pelo córtex adrenal (McDONALD, 1992). A maioria dos glicocorticoides de origem sintética são mais potentes do que o cortisol endógeno e, quando comparados entre si, a Dexametasona é cerca de 30 vezes mais potente do que a hidrocortisona e possui ação mais prolongada (LANGSTON, 1999).

Um dos mecanismos de ação anti-inflamatória dos glicocorticoides é a inibição da enzima fosfolipase A2 responsável pela hidrólise dos fosfolípidos da membrana originando ácidos graxos como o ácido araquidônico e a cascata, subsequente, de reações que darão origem aos mediadores da inflamação (COHN, 1991; ANDRADE; DE MARCO, 2006). Assim os glicocorticoides podem causar uma diminuição na distribuição de monócitos e macrófagos no testículo (ROSA, 2013), e conseqüentemente uma diminuição da carga viral, tendo vista que o CAEV infectam essas células.

Os indivíduos medicados com glicocorticoides, assim como aqueles que experimentam situações estressantes, podem apresentar alterações no leucograma caracterizadas por leucocitose, neutrofilia, linfopenia e eosinopenia, de caráter transitório (TORNQUIST; RIGAS, 2010). Essa condição é denominada leucograma de estresse e a intensidade e duração das alterações pode variar conforme a espécie animal (WELLES, 2010).

Animais portadores da CAE apresentam seu estado imunológico fragilizado, o que acarreta em animais de alto valor genético problemas para os caprinocultores, pois a manutenção destes animais infectados no rebanho representa sérios problemas sanitários.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos laboratórios da Embrapa Caprinos e Ovinos, situada em Sobral, Ceará (latitude 3°45'0,5" sul, longitude 40° 20'45,8" oeste, 11 metros de altitude) e recebeu a aprovação da CEUA – Embrapa Caprinos e Ovinos (protocolo nº11/2015).

Foram selecionados oito reprodutores caprinos, artificialmente infectados com a cepa padrão CAEV Cork (1mL/animal-10^{5.3}TCID₅₀/mL, via IM), sendo quatro reprodutores da raça Saanen e quatro Anglonubiano. O preparo do inoculo viral foi realizado segundo Guedes (1999), em cultura de células de membrana sinovial caprina (MSC), e o título foi calculado segundo Reed e Muench (1938).

Após um mês da inoculação do vírus, a sorologia dos animais foi constatada pelo teste de *Western blot* (WB) no sangue, segundo metodologia de Rodrigues et al. (2009), e no plasma seminal segundo técnica descrita por Peixoto (2014).

O manejo alimentar foi realizado de acordo com a nutrição pré-estabelecida pelos técnicos da Embrapa para os reprodutores confinados no Setor de Isolamento Caprino, sendo que receberam 200g/dia/animal de ração onde 70% milho, 24% farelo de soja, 4% calcário e 2% sal mineral, além de capim picado no cocho, sal mineral e água à vontade.

COLETA DE SÊMEN E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As coletas de sêmen dos reprodutores foram realizadas frente a uma fêmea soropositiva estrogenada com Ciprionato de Estradiol (ECP), em vagina artificial modelo francês (MIES FILHO, 1962), acoplado a um cone coletor e um tubo plástico, para cada animal. Em seguida, levado ao Laboratório de Tecnologia do Sêmen da Embrapa Caprinos e Ovinos.

Após as coletas o sêmen era avaliado quanto: volume (mL) , aspecto, Motilidade Individual Progressiva (0 a 100%), vigor (escala de 0 a 5) e concentração espermática (x 10⁹ mL), segundo normas do Colégio Brasileiro de Reprodução animal (CBRA, 2013). Após cada coleta era armazenada em eppendorf uma alíquota do sêmen puro em para nPCR, a qual era congelada em freezer - 80.

Também foram feitos esfregaços de sêmen de reprodutores em lâmina de microscopia para o exame diferencial de leucócitos, corados por Giensa de acordo com o

método panótico, adaptados para sêmen, e foram classificados como, neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L}$), linfócitos ($/\mu\text{L}$) e monócitos ($/\mu\text{L}$) (PUGH, 2004).

As coletas de sêmen ocorreram antes, durante e após o tratamento dos reprodutores com Dexametasona, sendo que o período da aplicação de corticoterapia as coletas foram diárias, sempre no período da manhã, por cinco dias consecutivos, iniciando-se no mesmo dia da primeira aplicação de Dexametasona, e estendendo-se por mais dois dias, após o término do tratamento.

As coletas de sêmen foram repetidas, com a mesma metodologia, com 60 e 67 dias após o início do tratamento com Dexametasona.

CORTICOTERAPIA

O tratamento foi realizado em todos os reprodutores e consistiu na aplicação de 6mg/dia por via intramuscular de Dexametasona (Cortvet®), durante três dias consecutivos (BARTH,1993). As aplicações ocorreram pela manhã, antes do início do manejo, e foram repetidas com 24h e 48h, objetivando produzir uma resposta imunossupressora das reações provocadas pelo CAEV.

Juntamente com a corticoterapia, os animais receberam 120mg/dia de enrofloxacino (Floxiclin®), por via subcutânea, durante sete dias, começando 24h antes da primeira aplicação da Dexametasona (Tabela 1). Este tratamento foi realizado de forma preventiva para proteger os reprodutores de qualquer outra infecção em decorrência do tratamento imunossupressor.

Tabela 1: Cronograma do tratamento com Dexametasona, associado ao Enrofloxacino e as coletas de sangue e sêmen, dos reprodutores portadores do CAEV.

DIAS	-1	0	1	2	3	4	5	60	67
HORAS	-24	0	24	48	72	96	120	1440	1608
DEXAMETAZONA		X	X	X					
ANTIBIÓTICO	X	X	X	X	X	X	X		
COLETAS DE SANGUE		X	X	X	X	X		X	
COLETAS DE SÊMEN		X	X	X	X	X		X	X

* Laboratório UCB

** laboratório Biofarm

COLETA DE SANGUE

As coletas de sangue, para a realização de hemogramas, iniciaram-se concomitante à primeira aplicação de Dexametazona e foram realizados, diariamente, durante cinco dias e repetidos após 60 dias do início do tratamento com a droga. As coletas de sangue foram realizadas sempre após as coletas de sêmen.

O sangue foi obtido por punção da veia jugular utilizando-se sistema à vácuo com tubos de 10 mL, com anticoagulante. As amostras foram centrifugadas a 1500g por 15 minutos, seguidas da separação do soro. Estes foram identificados e avaliados de acordo com os parâmetros hematológicos: contagem de hemácias em câmaras hematómetricas (milhões/ μ L), microhematócrito (%), hemoglobina pelo método da cianometahemoglobina (g/dL), Volume Corpuscular Médio - VCM (fL), Hemoglobina Corpuscular Média - HCM (pg), Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média - CHCM (%), assim como contagem de leucócitos em câmaras hematómetricas (milhares/ μ L) e contagem diferencial de leucócitos em esfregaços corados por panótico rápido, classificados como neutrófilos bastonetes (/ μ L), neutrófilos segmentados (/ μ L), eosinófilos (/ μ L), basófilos (/ μ L), linfócitos (/ μ L) e monócitos (/ μ L) (PUGH, 2004).

REAÇÃO DE CADEIA POLIMERASE (PCR) E *NESTED* PCR

As alíquotas de sêmen foram previamente filtradas em coluna de Sephacryl S-400, segundo a técnica de Santurde et al. (1996), para retirada das impurezas. Após a filtragem, 3 μ L das amostras foram transferidas para um tubo tipo eppendorf® e adicionado de 200 μ L de solução de Chelex 100 a 5%, 2 μ L de proteinase K (10 μ g/ μ L) e 7 μ L de dithiothreitol a 1M, sendo então incubadas em banho-maria, a 56°C, por 60 minutos.

Logo após as amostras foram submetidas ao vortex por 10 segundos, seguindo-se banho de água fervente por 8 minutos, para inativação da proteinase K. Por fim foram centrifugadas por três minutos a 13.000xg e acondicionadas em freezer, -20°C, até sua utilização.

Para a amplificação por *Nested* PCR, do DNA, foram utilizados dois pares de iniciadores derivados de sequências das regiões gag da amostra padrão CAEV-Cork (SALTARELLI et al., 1990), sendo os iniciadores externos P1 (5'CAAGC AGCAGGAGGGAGAAGCTG-3', nucleotídeos 953 a 975) e P2 (5'TCCTACCCCC

ATAATTTGATCCAC-3', nucleotídeos 1249 a 1226), descritos por Barlough et al. (1994), resultando na amplificação de um fragmento de DNA de 297pb. O produto dessa amplificação foi então submetido a uma segunda rodada de amplificação com os iniciadores internos direcionados para o mesmo gene, P3 (5'GTTCCAGCAACTGCAAACAGTAGCAATG-3', nucleotídeos 997 a1024) e P4 (5'ACCTTTCTGCTTCTTCATTTAATTTCCC-3', nucleotídeos 1181 a 1154), resultando em um fragmento final de 187pb (RIMSTAD et al., 1993).

As reações de amplificação foram realizadas em termociclador, constituindo-se de um passo inicial para desnaturar as fitas de DNA, de 94°C por 5 minutos; seguido de 35 ciclos: 94°C - 1 minuto, 56°C - 1 minuto, 72°C - 45 segundos; e extensão final a 72°C por 7 minutos; 4°C - até a coleta da amostra.

As amostras amplificadas e os controles positivos e negativos, juntamente com o marcador de peso molecular (DNA ladder), foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1% em TBE (Tris, borato e EDTA 0,5X) corado com brometo de etídio adicionado ao gel (0,5µg/mL). Cada amostra (10µL), juntamente com 2µL de tampão de corrida, foi submetida à eletroforese em cuba horizontal, com TBE (0,5X), por 40 minutos (2A e 90 volts). A visualização das bandas de DNA foi realizada em transiluminador de luz ultravioleta e registrada, fotograficamente.

ANALISE ESTATISTICA

Descritiva e pelo Teste de Tukey, a 0,5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O estado sorológico dos animais infectados artificialmente foi comprovado pela técnica de *Western Blot* (WB), tanto no plasma sanguíneo quanto no plasma seminal, sendo que todos os oito animais apresentaram resultado positivo para plasma sanguíneo após 30 dias da inoculação viral, enquanto que, no mesmo período, apenas quatro reprodutores apresentaram anticorpo anti-CAEV no plasma seminal, sendo dois da raça Anglonubiana e dois da raça Saanen identificados como animais 2, 3, 5 e 6.

Na tabela 2, é apresentada a média das características espermáticas dos reprodutores, pré tratamento, durante o tratamento com corticoterapia e pós tratamento, como: volume, aspecto do sêmen, concentração, MIP- Motilidade Individual Progressiva e vigor espermático.

Tabela 2: Parâmetros reprodutivos dos animais durante o pré tratamento, corticoterapia e após o tratamento com Dexametasona.

	n	Vol.(ml)	Aspecto	Conc. (x10 ⁹)	MIP%	VIGOR
Pré- tratamento	8	0,8	C – CE	4,60	75,0	3,0
	0h	7	C – CE	4,60	67,1	3,6
	24h	5	L – CE	3,56	76,7	3,5
Corticoterapia	48h	4	Aq – C	3,39	86,0	3,8
	72h	3	Aq – CE	3,00	65,0	3,8
	96h	3	LE – CE	3,89	87,5	3,8
Pós-tratamento	1440h	7	C – CE	4,46	80,0	3,9
	1608h	5	C – CE	4,67	84,0	3,8

n – número de animais

Notou-se uma redução da libido dos animais durante o tratamento com Dexametasona, sendo que de sete reprodutores que reagiam frente a fêmea em estro, apenas três animais apresentaram libido possibilitando a coleta de sêmen às 72 e 96h do tratamento.

Alkass (2009) utilizou Dexametasona em ovinos com aplicações semanais onde neste caso observou um aumento no volume do ejaculado e da motilidade espermática sem alteração na concentração espermática, o que com este trabalho em caprinos não foi

condizente, pois houve alterações tanto no volume quanto na concentração espermática, fato este que posteriormente retornou à normalidade.

Ainda foi observado os seguintes efeitos comportamentais após a aplicação Dexametasona: apatia, sonolência e quietude.

Antes da aplicação de Dexametasona, temos que pela PCR *Nested* no sêmen constatou-se que de três de oito (37,5%) amostras foram positivas (animais 2, 4 e 5) no sêmen puro.

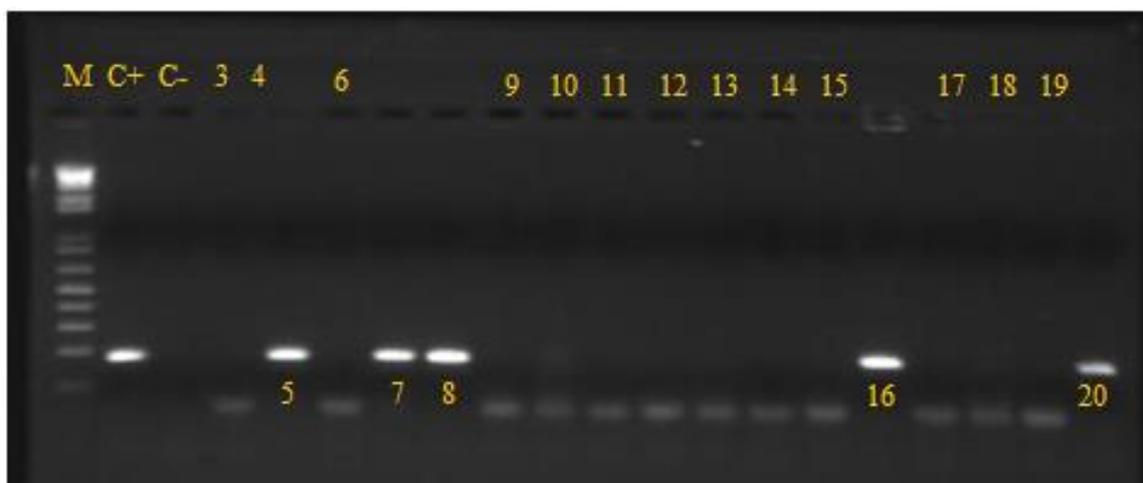


Figura 1: Gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio. Amplificação do DNA pró-viral de amostras de sêmen de caprinos infectados com o CAEV.

M: marcador molecular, DNA ladder; C+: controle positivo; C- : controle negativo; canaletas 3, 4, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17,18, 19: amostras negativas; canaletas 5,7,8, 16 e 20: amostras positivas (187pb).

Tabela 3: Resultados da PCR_n em amostras de sêmen de reprodutores em diferentes horários com relação ao tratamento com Dexametasona.

Animal	Pré-tratamento		Pós-tratamento					
	-1440h	0h	24h	48h	72h	96h	1440h	1608h
1	Neg.	Pos.	Neg.	Neg.	Neg	Neg	Neg	Neg
2	Pos.	Pos.	Pos.	Neg.	Pos.	Pos.	Neg	Neg
3	Neg.	Pos.	-	Pos.	-	-	-	-
4	Pos.	Pos.	Pos.	-	-	-	-	Neg
5	Pos.	Neg.	-	-	-	-	-	Neg
6	Neg.	Pos.	Pos.	Neg.	Neg.	Neg	Neg	Neg
7	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg	Neg	Neg	Neg
8	Neg.	-	-	-	-	-	Neg	Neg

Foi realizada técnica de PCR_n em sêmen afim de verificar a presença de DNA pro viral, uma vez que esses animais passaram pelo tratamento com Dexametasona que deveria diminuir o número de animais positivos uma vez que ela diminui a presença de monócitos circulantes, como pode ser observado no gráfico 1, os quais seriam os principais responsáveis por carrear o vírus até os testículos.

Na tabela 2 pode-se observar que as 0h, onde não há interferência da Dexametasona, seis animais de sete apresentaram-se positivos, observa-se também que após o último dia da aplicação da droga (72h e 96hs) de quatro animais apenas um apresentou-se positivo. Também os monócitos no sangue apresentaram menor proporção em relação aos número total de leucócitos 2,4% e 0,95%, respectivamente para as 72 e 96hs (gráfico 1). As 1440h e 1608h todos os animais coletados apresentaram-se negativos, o que pode ser explicado pelo fato que a Dexametasona continuar fazendo efeito mesmo após dois meses de sua interrupção, pois a porcentagem de monócitos no sangue após 1440hs da aplicação de Dexametasona era 0,6%.

Durante um processo inflamatório neutrófilos, linfócitos e monócitos migram para o sítio problema, sendo que os monócitos transformando-se em macrófagos, a fim de fagocitar partículas de microrganismos, células necrosadas e neutrófilos mortos (SANCHES, 2008).

O CAEV apresenta em cada vírion duas cópias de RNA de filamento único que se replica pela formação de um ácido desoxirribonucléico (DNA) dependente da transcriptase reversa, o que permite a integração viral ao genoma do hospedeiro. O vírus apresenta tropismo principalmente pelas células do sistema monocítico fagocitário que funcionam como meio de distribuição e replicação viral. “A replicação restrita” permite que o vírus permaneça latente nos monócitos do hospedeiro e não seja detectável pelo sistema imune (PUGH, 2004). Contudo, é o tropismo do vírus por células do sistema imune, particularmente monócitos e macrófagos, o principal fator responsável pela aptidão dos lentivírus em causar infecções crônicas, que persistem por toda a vida do animal (PINHEIRO, 2001).

Recentemente estudos em humanos sobre HIV revelaram que o sêmen é o veículo de maior potência do vírus, pois constatou-se que há um peptídeo no sêmen responsável pelo transporte do vírus por entre as células das mucosas, aumentando a possibilidade de contaminação em até 100.000 vezes em relação a outras vias. Verificou-se neste estudo que fragmentos de uma proteína chamada fosfatase ácida prostática seria a responsável por tal. Em uma análise da estrutura do peptídeo no sêmen indicou que ele se liga a

fragmentos similares para criar fibras amilóides (aglomerados de fragmentos de proteína que também estão envolvidos em doenças como o Mal de Alzheimer). Estas fibras amilóides são tratadas como “potencializadores de infecção viral derivado do sêmen” (SEVI, na sigla em inglês). Se eles não se ligam para se tornarem fibras, os segmentos de peptídeo permanecem inativos e não potencializam a transmissão viral. No entanto, uma vez unidas, as fibras agem como meio de transporte, aprisionando e carregando as partículas do vírus HIV para as células-alvo. O HIV presente no sêmen é mais bem-sucedido que o vírus sozinho na infecção de células T e de macrófagos (ROAN et al., 2010).

Os esfregaços de sêmen evidenciaram a presença de neutrófilos, linfócitos e monócitos (Figura 2).

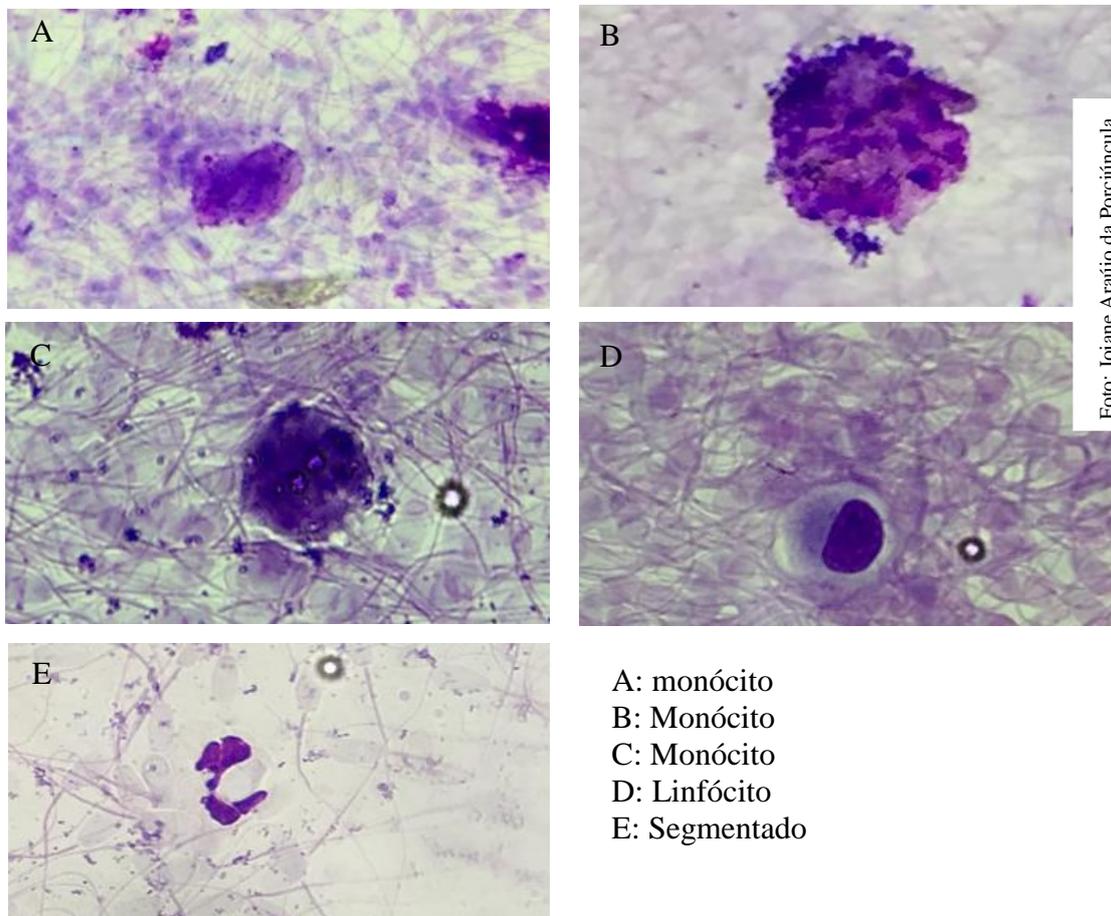


Figura 2: Leucócitos presente em esfregaço de sêmen corado com líquido Thomas.

Assim para avaliar o efeito imunossupressor da Dexametasona sobre a oscilação do número de monócitos presentes no sangue e conseqüentemente no sêmen, foi realizado

hemograma dos animais nos dias de aplicação da Corticoterapia e após tratamento (0, 24, 48, 72 e 96hs), assim como aos 60 dias (1.440h) após a sua aplicação, de tal modo que foi possível fazer um acompanhamento da evolução da CAE no período de aplicações de Dexametasona (tabela 5).

Com base nos parâmetros hematológicos para caprinos os valores que apresentaram alguma variação foram: o VCM às 72h onde o normal para a espécie é de 17 a 20fl, o HCM em 0h e 24h cujo normal seria de 6 a 7pg, e o CHCM em 48h, 72h, 96h e em 1440h, onde o normal é de 31 a 35% (OLIVEIRA et al., 2012).

Durante o período de avaliação, os animais apresentaram valores no eritrograma abaixo da faixa de normalidade para caprinos, estando de acordo com o achado de mucosas hipocoradas ao exame clínico, sendo indicativo de anemia verificada em reprodutores infectados pelo CAEV (CRAWFORD E ADAMS, 1981; PINHEIRO; ALVES, 2000).

O Leucograma caprino de acordo com dados para machos sadios da região nordeste (Oliveira et al., 2012), demonstrou que o número de leucócitos e neutrófilos estavam elevados, em todas as avaliações, uma vez que o normal é em média de 9600 a 12100 células/mm³ e 4225 a 6987 células/mm³, respectivamente. Quanto aos eosinófilos podem variar de 86 a 504 células/mm³, observou-se que às 48h nota-se um aumento significativo porem dentro dos limites para normalidade. Os valores normais para linfócitos variam de 3461 a 4797 células/mm³, sendo que observa-se que os valores estavam altos mas ainda sim na faixa de normalidade para a espécie. Finalmente os monócitos, que são as células alvo do CAEV, cujos parâmetros normais variam de 150 a 480 células/mm³ apresentou às 1440hs valor abaixo dos parâmetros normais. Além disso, houve uma diminuição significativa ($p < 0,05$) às 1440h com relação aos resultados obtidos à 0, 24 e 48hs.

Tabela 4: Parâmetros hematológicos (média ± dp) de reprodutores infectados pelo vírus da artrite encefalite caprina

Variável	0h	24h	48h	72h	96h	1440h
Hematócrito (%)	27,5±2,13	26±3,38	26±2,50	24,87±2,10	26,25±2,71	24,14±2,41
Hemoglobina (g/dL)	8,73±0,71	8,7±0,90	10,22±1,19	10,73±0,92	10,75±1,09	9,31±1,51
VCM (fL)	17,36±1,29	16,56±1,24	16,46±2,17	15,87±0,99 ↓	16,45±1,89	16,8±1
HCM (pg)	5,5±0,18 ↓	5,52±0,27 ↓	6,41±0,32	6,82±0,34	6,68±0,18	6,15±0,41
CHCM (%)	31,97±2,51	33,56±2,06	39,48±5,06 ↑	43,16±2,34 ↑	41,24±5,99 ↑	38,5±4,03 ↑
Hemácias (milhares/ mm³)	15,73±1,48	15,65±1,69	15,90±2,05	15,66±1,55	16,01±1,66	15,01±2,00
Leucócitos (milhares/mm³)	12.886±3.770,24a ↑	17.313±5.550ab ↑	18.225±6.088,33ab ↑	19.825±7.386,42b ↑	18.787,5±4.790,29b ↑	13.500±3.294,4a
Eosinófilos (µL)	188,75±302,63a	238,87 ±464,84a	583,37 ±519,07b ↑	243,75±318,64 a	337,62 ±250,64ab ↑	243±276,14a ↑
Neutrófilos *Bast.(µL)	70,375±99,82ab	175,5±113,94a	79,5 ±110,22ab	141,25±124,19ab	28,5±52,78b	121,57±91,33ab
Neutrófilos **Seg.(µL)	6.301,5±3.118,48a	11.255,3±5.432,82a ↑	9.720,37±5.579,62a ↑	11.932,75±6.393,57a ↑	10.496,13±3.635,15a ↑	6.268,71±1.980,06a
Linfócitos (µL)	4.829,37±1.803,45a	5.288,75±1.955,11a	7.456,37±3.348,92a ↑	7.031,25±3.172,25a ↑	7.746,25±3.836,32a ↑	6.788,85±2.453,23a
Monócitos (µL)	320,87± 278,24a	354,12± 340,64a	385,37±158,86a	476 ±492,35ab ↑	179±147,36ab ↓	77,85±99,70b ↓

a ; b: Valores na mesma linha com letras diferentes tem significância $p < 0,05$.

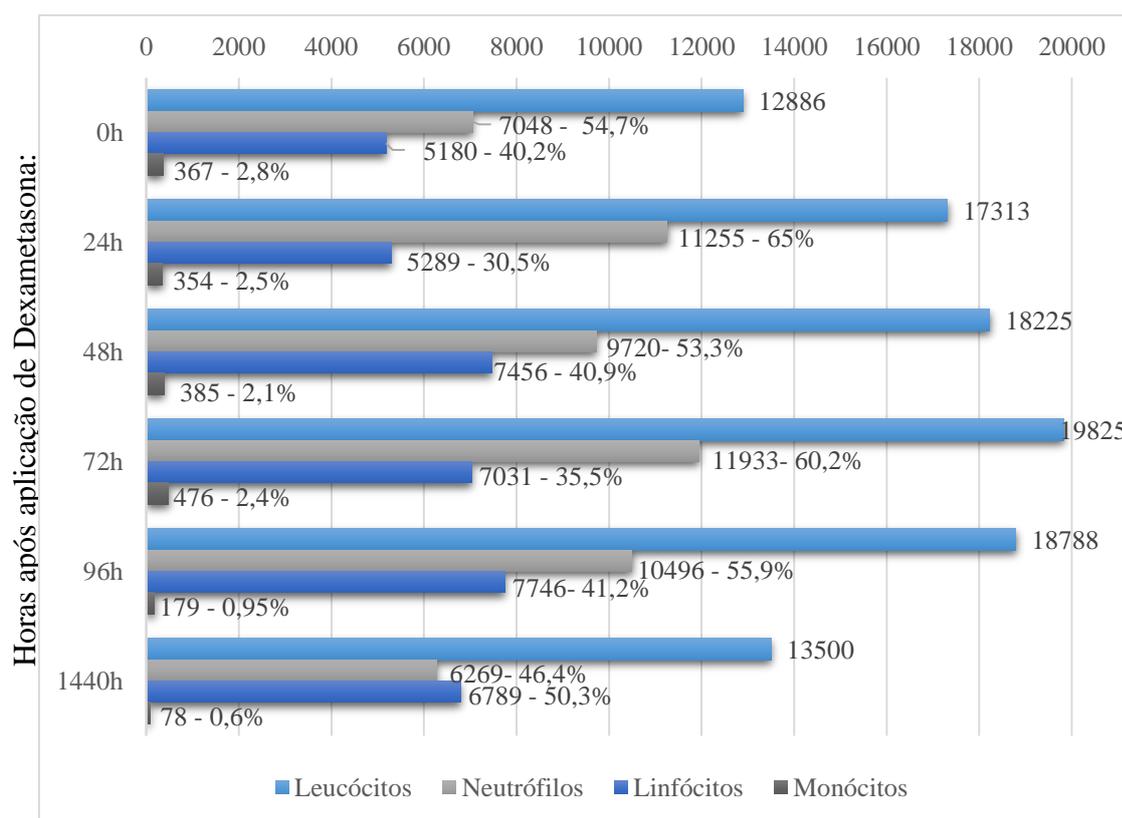
VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média ; CHCM: concentração hemoglobínica corpuscular média.

Variáveis: *Bast. = Bastonetes; ** Seg = Segmentados

Existe descrição de monocitose associada a doenças de natureza crônica e de longa duração, como por exemplo, a CAE, tuberculose e brucelose (PAULA et al., 2009). Porém durante todo o experimento não verificou-se monocitose, muito provavelmente pela migração constante destes para os focos de infecção da CAE. Porém, geralmente, os eosinófilos estão ausentes na fase aguda da doença, reaparecendo com a evolução do processo. Observamos que ocorreu um aumento significativo dos eosinófilos às 48hs, provavelmente devido à queda da imunidade.

A corticoterapia pode causar profundos e variados efeitos metabólicos, além disso modificar a resposta imunológica do organismo a diversos estímulos, assim a fim de evitar a ocorrência de doenças oportunistas, por conta da baixa imunidade, foi aplicado antibiótico (Floxacin®), um dia antes da corticoterapia e seguiu-se por três dias após o término do tratamento.

Gráfico 1: Porcentagem de neutrófilo, monócito e linfócito com relação aos leucócitos.



De acordo com o descrito anteriormente, a relação entre leucócitos e monócitos às 0h era de 2,8% (367), em 24h 2,5% (354), em 48h 2,1% (385), 72h 2,4% (476), 96h

0,95% (179) e dois meses depois 1440h apenas 0,6% (78) (gráfico 1). Demonstrando uma queda no número de monócitos com dois dias após o término da corticoterapia. Com um mês após a aplicação pode-se notar uma diminuição no número de leucócitos, e uma maior queda no número de monócitos 0,6% (78), demonstrando que ocorreu uma menor migração dos monócitos para o sítio problema.

De acordo com Santo (2010) para pequenos animais, é possível observar que uso de Dexametasona ocasionaria uma leucofilia devido ao aumento do número de neutrófilos circulantes, no entanto neste estudo observamos que isso não foi visualizado estando os níveis de neutrófilos normais para a espécie, Santo (2010) ainda diz que há uma redução dos linfócitos e eosinófilos circulantes quanto ao uso de glicocorticoide observação esta que no caso dos caprinos, também não ocorreu.

Os glicocorticoides deprimem a atividade dos tecidos linfoides. A ação imunossupressora dos glicocorticoides se manifesta na redução da imunidade mediada por células e diminuição da produção de anticorpos. Embora a depressão do tecido linfóide seja indesejada, esta ação pode ser útil no tratamento de certas neoplasias como o Linfossarcoma (SANTO 2010).

CONCLUSOES

O tratamento com Dexametasona interferiu nos parâmetros reprodutivos e na libido dos reprodutores. Porém a longo prazo houve a redução dos monócitos no sangue, bem como da presença de DNA-proviral no sêmen.

A Dexametasona não comprometeu a saúde dos reprodutores portadores do CAEV.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALKASS, Z. M. Y., the effect of the dexamethasone on sperm characteristic and testosterone level on Awassi rams, **Jornal of Animal and Veterinary Advances**, London, v.8, n. 3, p. 598-602, 2009.

ANDRADE, M. M. J.; DE MARCO, V. Antiinflamatórios esteroidais. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. Farmacologia aplicada à medicina veterinária, 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 273-285, 2006.

BARLOUGH, J.; EAST, N.; ROWE, J.D. Double-nested polymerase chain reaction for detection of caprine arthritis-encephalitis virus proviral DNA in blood, milk and tissues of infected goats. **Journal of Virology Methods**, v.50, p.101-114, 1994

BARTH, J.; LEHR, K.H.; DERENDORF, H.; MÖLLMANN, H.W.; HÖHLER, T.; HOCHHAUS, G. Studies on the pharmacokinetics and metabolism of prednicarbate after cutaneous and oral administration. **Skin Pharmacol.**, v.6, n.3, p. 179-86, 1993.

COHN, L. A. The influence of corticosteroids on host defense mechanisms. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Melbourne, v. 5, n. 2, p. 95-104, 1991.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL - CBRA, Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2.ed. Belo Horizonte, CBRA, 2013.

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**. Assoc. , Ithaca, v.178, p.713, 1981.

GUEDES, M. I. M. C. Infecção Experimental pelo vírus da artrite encefalite caprina em cabritos de nove a vinte e sete dias de idade. 1999. 59f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária - Área de Patologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

LANGSTON, V. C. Therapeutic Management of Inflammation. In: HOWARD, J. L.; SMITH, R. A. Current veterinary therapy 4: food animal practice. Philadelphia: Saunders, p. 7-12. 1999.

MARTÍNEZ-NAVALÓN, B.; PERIS, C.; GÓMEZ, E.A.; PERIS, B.; ROCHE, M. L.; CABALLERO, C.; GOYENA, E.; BERRIATUA E. Quantitative estimation of the impact of caprine arthritis encephalitis virus infection on milk production by dairy goats. **The Veterinary Journal**, v.197, p. 311–317, 2013.

MCDONALD, L. E. Hormônios que influenciam o metabolismo. In: BOOTH, N. H.; MCDONALD, L. E. Farmacologia e terapêutica em veterinária. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 493-526, 1992.

MIES FILHO, A. Novo modelo de vagina artificial para ovinos. **Revista da Faculdade de Agronomia do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v.5, p.187-193, 1962.

OLIVEIRA M.G.C.; Nunes T.L.; Paiva A.L.C.; Bezerra T.C.G.; Fernandes N.S.; Vale A.M.; Barrêto Júnior R.A.; Paula V.V. Aspectos hematológicos de caprinos (*Capra hircus*) da raça Canindé criados no Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 32(Supl.1):4-8, 2012.

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, p. 27-33, 2009.

PEIXOTO, R. M. Avaliação comportamental, fisiológica e hematológica de reprodutores caprinos portadores do vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) e análise do teste de Western Blotting no plasma seminal - Mestrado em Zootecnia pela Universidade Estadual Vale do Acaraú. Bolsista FUNCAP. Defesa Agosto de 2014.

PINHEIRO, R.R.; ALVES, F.S.F. Parâmetros clínicos, exame do líquido sinovial e hemograma na artrite encefalite caprina viral. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. , v.20, n.6, p.263- 264, 2000.

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*, Santa Maria, v. 31, n.3, p. 449-454,2001.

PINHEIRO, R. R.; CHAGAS, A. C. S.; ANDRIOLI, A.; ALVES, F. S. F. **Viroses de pequenos ruminantes**. Sobral, CE: Embrapa Caprinos, 2003. (Série Documentos, 46).

PUGH, D.G. (ed.). *Clínica de ovinos e caprinos*. São Paulo: Roca, 513p. 2004.

REED, L.J.; MUENCH, H. A simple method of estimating fifty percent end points. **American Journal Higiene**, v. 27, p. 493-497, 1938.

RIMSTAD E.; EAST, N.E.; TORTEN, M. et al. Delayed seroconversion following naturally acquired caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats. **American Journal Veterinary Research**. V. 54, n.11, p. 1858-1862, 1993.

ROAN, N.R.; SOWINSKI S.; MÜNCH J.; KIRCHHOFF F.; GREENE W.C.; Aminoquinoline Surfen Inhibits the Action of SEVI (Semen-derived Enhancer of Viral Infection). **The Journal of Biological Chemistry**, 285(3): 1861–1869, 2010.

RODRIGUES, A.S.; BRITO, R.L.L., SANTOS, V.W.S., et al. Comparação de dois testes orologicos na evolução da infecção natural de caprinos leiteiros com o vírus da artrite encefalite caprina - dado preliminares. In: 4º Simposio Internacional Sobre Caprinos e Ovinos de Corte. Joao pessoa: 2009. Anais... Joao Pessoa, 2009

SALTARELLI M.; QUERAT, G.; KONINGS, D.A M; et al. Nucleotide and transcriptal analysis of molecular clones of CAEV which generate infections virus. **Virology**, v.179, p. 347-364, 1990.

SANCHES, B. G. S; Avaliação da função fagocíticas de células da linhagem monocito-macrófago de caprinos naturalmente infectados pelo vírus da artrite encefalite caprina a, *Corynebacterium pseudotuberculosis* Dissertação de Mestrado, Faculdade de medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade SÃO PAULO, São paulo. 79f. 2008.

SANTO, S. M F do E. Glicocorticoides na Prática Clínica Veterinária de Pequenos Animais. Resumo de Levantamento Bibliográfico acessado dia 04 de março de 2016 em: <<http://www.webartigos.com/artigos/glicocorticoides-na-pratica-clinica-veterinaria-de-pequenos-animais/34507/#ixzz4AKtC4ztm>> 2010

SANTOS, A.D.F.; TORRES, C.A.A.; FONSECA, J.F.; BORGES, A.M.; COSTA, E.P.; GUIMARÃES, J.D.; ROVAY, H. Parâmetros reprodutivos de bodes submetidos ao manejo de fotoperíodo artificial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.1926-1933, 2006.

SANTURDE, G.; DA SILVA, N.; VILLARES, R.; TABARES, E.; SOLANA, A.; BAUTISTA, J.M.; CASTRO, JM. Rapid and high sensitivity test for direct detection of bovine herpesvirus-1 genome in clinical samples. **Veterinary Microbiology**, v.49, n.1, p.81-92, 1996.

SOUZA, K. C.; PINHEIRO, R. R.; SANTOS, DIONES O; BRITO, R. L. L.; RODRIGUES, A. S.; SIDER, L. H.; PAULA, N.R.O.; AVILA, A. A.; ANDRIOLI, Alice. Transmission of the caprine arthritis-encephalitis Virus through artificial insemination. **Small Ruminant Research**, 2015.

TORNQUIST, S. J.; RIGAS, J. Interpretation of ruminant leukocyte responses. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. Schalm's veterinary hematology. 6. ed. Anes: Iowa, p. 307-313, 2010.

WELLES, E. G. Interpretation of equine leukocyte responses. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. Schalm's veterinary hematology. 6. ed. Anes: Iowa, p. 314- 320, 2010.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o estudo realizado, nota-se que o uso do glicocorticoide (Dexametasona) em caprinos não ocasiona danos colaterais severos aos mesmos, os quais podem ser adotados para combater infecções. Porém temos que ter o cuidado quando utiliza-lo em reprodutores, uma vez que os parâmetros reprodutivos são afetados negativamente durante seu uso prolongado ou não.