UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO ACARAÚ
PROGRAMA DE MESTRADO EM ZOOTECNIA

BEM-ESTAR DE CAPRINOS LEITEIROS INFECTADOS COM O LENTIVÍRUS DE PEQUENOS RUMINANTES E *Corynebacterium pseudotuberculosis,* EM AMBIENTE PRODUTIVO

BÁRBARA KAREN MARQUES MENDES

SOBRAL-CE
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Estadual Vale do Acaraú

Sistema de Bibliotecas

Mendes , Bárbara Karen Marques Mendes
BEM-ESTAR DE CAPRINOS LEITEIROS INFECTADOS COM O LENTIVÍRUS DE PEQUENOS RUMINANTES E Corynebacterium pseudotuberculosis, EM AMBIENTE PRODUTIVO [recurso eletrônico] / Bárbara Karen Marques Mendes Mendes . -- Sobral, 2021.
1 CD-ROM: 4 $^{3}/_{4}$ pol.

CD-ROM contendo o arquivo no formato pdf do trabalho acadêmico com 73 folhas.
Orientação: Prof.ª Dr.ª Alice Andrioli Pinheiro .
Co-Orientação: Prof. Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro .

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

1. Linfadenite caseosa. 2. Artrite Encefalite Caprina . 3. Imunidade . 4. Diagnostico sorológico . 5. PCRn . I. Título.

Bárbara Karen Marques Mendes

BEM-ESTAR DE CAPRINOS LEITEIROS INFECTADOS COM O LENTIVÍRUS DE PEQUENOS RUMINANTES E *Corynebacteriumpseudotuberculosis,* EM AMBIENTE PRODUTIVO

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Vale do Acaraú como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.
Orientadora: Prof.ª Drª. Alice Andrioli Pinheiro
Coorientador: Prof.ª Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro

SOBRAL-CE
2021

Bárbara Karen Marques Mendes

BEM-ESTAR DE CAPRINOS LEITEIROS INFECTADOS COM O LENTIVÍRUS DE PEQUENOS RUMINANTES E *Corynebacteriumpseudotuberculosis,* EM AMBIENTE PRODUTIVO

Esta Dissertação foi julgada adequada como requisito parcial para obtenção do título de "Mestre em Zootecnia" e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Vale do Acaraú

Sobral, 07 de dezembro de 2021.

Profa. Cláudia Goulart de Abreu,
Dra. Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr Ney Rômulo de Oliveira Paula
Universidade Federal do Piauí

Profa. Dra. Alice Andrioli Pinheiro
Orientadora
Universidade Estadual Vale do Acaraú

Prof. Dr Raymundo Rizaldo Pinheiro
Coorientador Universidade Estadual Vale do Acaraú

Dra. Ana Milena César Lima
Universidade Federal do Piauí

Profa. Dra Angela Maria de Vasconcelos
Universidade Estadual Vale do Acaraú

Honra e fechamento desse ciclo dedicando aos meus pais, Maria Lucivalda Oliveira Marques Lopes e Gerardo Mendes Lopes, e ao meu tio, Francisco Mendes Lopes, meus grandes incentivadores da realização dos meus sonhos.

Muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por toda força para que eu conseguisse chegar até aqui com determinação, perseverança e para que nunca desistisse.

Aos meus pais, Maria e Gerardo pelo apoio, pela paciência e conselhos os quais foram primordiais para meu crescimento pessoal e profissional.

Ao meu tio Francisco que me ajudou nessa trajetória, através de seus conselhos e cuidados que teve comigo.

A minha orientadora, Dra. Alice Andrioli Pinheiro, um agradecimento carinhoso por todas as oportunidades e por ter acredito no meu potencial quando eu mesma duvidei.

Ao meu coorientador, Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro pelos ensinamentos e oportunidades que me deu durante essa trajetória.

Ao Dr. Francisco Selmo F. Alves que esteve sempre disposto em me ajudar, com seus ensinamentos e paciência.

A minha grande amiga Ana Milena, pela atenção e pela disponibilidade em sempre me repassar suas experiências práticas e teóricas com muita eficiência.

Aos meus amigos “Embrapianos” que fiz ao longo dessa experiência; Nathalia, Zenaide, Renato, Jamille e Samara.

Aos meus amigos e companheiros de mestrado, os quais muitos estão comigo desde a graduação, Ana Kelry, Rafael Ferreira, Patrício Leandro, Evilene, Rogervânia, Elane Soares, Suzana.

As minhas amigas de longas datas Livia, Laires e Joice obrigada por tornarem meus dias mais felizes e menos dolorosos.

Ao meu namorado Felipe, por sempre estar ao meu lado me apoiando para realização dos meus sonhos.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA Caprinos e Ovinos, pelo apoio financeiro, técnico e estrutural para a concretização dessa pesquisa.

A Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA) e à coordenação do Programa de Pós-Graduação pela oportunidade de realização do Mestrado Acadêmico em Zootecnia.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelo apoio financeiro ao projeto, e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado.

“A vida sem ciência é uma espécie de morte.”

Sócrates

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar rebanhos caprinos leiteiros contaminados com o Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR) e *Corynebacterium pseudotuberculosis* quanto aos parâmetros clínicos e sua relação com o bem-estar animal dentro do âmbito produtivo. No primeiro momento foram avaliados 1010 animais sendo 921 fêmeas e 89 machos oriundo de rebanhos caprinos leiteiros de duas regiões do Brasil. Esses animais foram avaliados através dos testes de diagnósticos: Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA), *Western Blot* (WB) e Reação em Cadeia da Polimerase *Nested* (PCR*n*) e ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática) para a Linfadenite Caseosa (LC). Das 1010 amostras coletadas, 405 (40,10%) apresentaram anticorpos para LVPR, no teste de IDGA, sendo que destes animais soropositivos, 216 apresentaram resultado positivo também para Linfadenite Caseosa no teste de ELISA (53,33%). No teste de WB, caracterizado como mais sensível aos níveis de anticorpos ao LVPR, foram identificados 507 (50,20%; 507/1010) animais soropositivos para LVPR, respectivamente. Já em relação ao teste de ELISA para identificação de animais soropositivos para LC, 260 dos 507 caprinos WB positivos (51,28%) eram portadores de anticorpos contra o *C. pseudotuberculosis*. Já no teste de PCR*n* os 284 caprinos testaram positivo (53,52%) e não apresentaram anticorpos contra *C. pseutuberculosis*, enquanto 45,48% foram positivos para LC (P>0,05). Animais positivos ao LVPR têm predisposição para a infecção pelo *C. pseudotuberculosis*. Na segunda parte desta pesquisa foi avaliado os parâmetros clínicos como: dor ao toque, problemas pulmonares, índice articular clinico e escore corporal de animais contaminados com a LVPR e sua relação com seu bem-estar animal. Foram submetidos 1189 animais, aos testes de diagnóstico para LVPR, os mesmos usados na pesquisa anterior e avaliados a presença de sinais clínicos relacionados com a doença. Os animais infectados apresentaram escore corporal magro, obeso e normal. Os sintomas pulmonares não foram relacionados com a enfermidade, porém problemas articulares foram evidentes nos animais positivos aos testes sorológicos, constatando que os animais positivos pelo teste de WB, apresentaram em sua maioria (67,8%) o índice articular clínico (IAC) alterado. Quanto a manifestação de dor nas articulações, que foi observada em animais com claudicação e ao ser examinado ao toque observou-se que esteve mais presente em animais positivos para o IDGA e WB (54,6% e 65,3%, respectivamente). Foi evidenciado a relação direta, do índice articular clínico com a sintoma de dor. Concluímos que os animais positivos aos LVPR têm um maior comprometimento em relação ao bem-estar, perante os sintomas manifestados de dor, inchaço nas articulações, inflamações crônicas resultando em problemas no bem-estar e na produção.

Palavras-chave: Bem-Estar Animal, Artrite Encefalite Caprina, diagnóstico sorológico.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the dairy goat herds contaminated with the Small Ruminant Lentivirus (SRLVs) and *Corynebacterium pseudotuberculosis* regarding the clinical parameters and its relation with the animal welfare within the productive scope. At first, 1010 animals were evaluated, 921 females and 89 males from These animals were evaluated through diagnostic tests: Agar-gel immunodiffusion (AGID), *Western Blot* (WB) and nested polymerase chain reaction (nPCR) to SRLVs and ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) to Caseous Lymphadenitis (CL). Of the 1010 samples collected, 405 (40.10%) presented antibodies to SRLVs, in the AGID test, and of these seropositive animals, 216 also presented positive results for Caseous Lymphadenitis in the ELISA test (53.33%), thus corresponding to 53 .33%. In the WB test, characterized as more sensitive to SRLVs antibody levels, 507 (50.20%; 507/1010) animals seropositive for SRLVS were identified, respectively. Regarding the ELISA test to identify CL seropositive animals, 260 of the 507 WB positive goats (51.28%) had antibodies against *C. pseudotuberculosis*. In the nPCR test, the 284 goats tested positive (53.52%) and did not show antibodies against *C. pseutuberculosis*, while 45.48% were positive for CL (P>0.05). SRLVs positive animals are predisposed to infection by *C.pseudotuberculosis*. In the second part of this research, clinical parameters such as: painto touch, lung problems, clinical joint index and body score of animals infected with SRLVs and its relation to animal welfare. 1189 animals were submitted to diagnostic tests for SRLVs, the same used in the previous research, and evaluated for the presence of clinical signs related to the disease. Infected animals had lean, obese and normal body scores. Pulmonary symptoms were not related to the disease, but joint problems were evident in animals positive to serological tests, noting that the animals positive by the WB test, presented in their majority (67.8%) the altered clinical joint index. As for the manifestation of pain in the joints, which was observed in animals with lameness and when examined by touch, it was observed that it was more present in animals positive for AGID and WB (54.6% and 65.3%, respectively). The direct relationship between the clinical joint index and the pain symptom was evidenced. We conclude that animals positive to SRLVs, have a greater commitment in relation to well-being, given symptoms of pain, joint swelling, chronic inflammation resulting in problems in well-being and production.

Keywords: Animal Welfare, Caprine Arthritis Encephalitis, Serological Diagnosis.

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO I

Tabela 1. Sequencias dos primers usados na Reação em Cadeia da Polimerase *nested* (nPCR) com o tamanho dos fragmentos amplificados..... 20

Tabela 2. Resultado do teste de ELISA para o diagnóstico de Linfadenite Caseosa em caprinos LVPR soropositivos aos testes de IDGA e WB..... 22

Tabela 3. Resultado dos testes de Linfadenite Caseosa, por ELISA, em caprinos portadores do LVPR pelo teste de PCR*n*..... 22

CAPÍTULO II

Tabela 1. Pontuação de condições corporal em ovinos e caprinos..... 49

Tabela 2. Número e porcentagem de animais positivos e negativos ao LVPR pelas técnicas de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), Western Blot (WB) e Reação em Cadeia da Polimerase *nested* (PCR*n*)..... 49

Tabela 3. Escore corporal de cabras leiteiras e resultado dos testes de diagnósticos para o LVPR, pelas técnicas de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), Western Blot (WB) e Reação em Cadeia de Polimerase (PCR*n*)..... 49

Tabela 4. Animais com alterações pulmonares e resultados dos testes de diagnósticos para o LVPR, pelas técnicas de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), Western Blot (WB) e Reação em Cadeia da polimerase *nested* (PCR*n*)..... 50

Tabela 5. Índice articular clínico (IAC) e resultado dos testes de diagnósticos para o LVPR, pelas técnicas de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), Western Blot (WB) e Reação em Cadeia da Polimerase *nested* (PCR*n*)..... 50

Tabela 6. Animais com manifestação de dor e resultado dos testes de diagnósticos para o LVPR, pelas técnicas de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), Western Blot (WB) e Reação em Cadeia da Polimerase *nested* (PCR*n*)..... 50

Tabela 7. Animais com índice articular clínico com presença de dor..... 51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
AGID	Agarose gel immunodiffusion
BEA	Bem-estar animal
BHI	Caldo de Infusão de cérebro e coração, do inglês *Brain Heart Infusion*
CAE	Artrite Encefalite Caprina
CAEV	Vírus da Artrite Encefalite Caprina
CE	Ceará
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Ligada a Enzima, do inglês *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*
ELISA-i	ELISA Indireto
IDGA	Imunodifusão em gel de agarose
IL	Interleucinas
LC	Linfadenite Caseosa
LVPR	Lentivírus de pequenos ruminantes
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
PCRn	Reação em cadeia da polimerase *nested*
RNA	Ácido do Ribonucleico
SRLVs	*Small Ruminant Lentivirus*
WB	*Western Blot*

SUMARIO

	Página
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	12
1.1. OBJETIVO GERAL.....	13
1.2. OBJETIVO ESPECIFICO.....	13
2. CAPÍTULO I – Estudo da coinfecção de caprinos leiteiros infectados com lentivírus de pequenos ruminantes e *Corynebacterium pseudotuberculosis*	15
2.2. RESUMO.....	16
2.3. ABSTRACT.....	16
2.4. INTRODUÇÃO.....	17
2.5. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
2.5.1. CARACTERIZAÇÃO DO UNIVERSO AMOSTRAL.....	18
2.5.2. AMOSTRAGEM E DELIAMENTO ESTATISTICO.....	19
2.5.3. COLETAS DE SANGUE E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	19
2.5.4. TESTES LABORATORIAIS.....	19
2.5.5. ANALISE ESTATISTICA.....	21
2.6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
2.7. REFERÊNCIAS.....	26
3. CAPÍTULO II – Parâmetros clínicos de caprinos procedentes de rebanhos contaminados com o Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR) e sua relação com o Bem-estar animal.	31
3.1. ABSTRACT.....	32
3.2. RESUMO.....	33
3.3. INTRODUÇÃO.....	33
3.4. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.4.1. ÁREA DE ESTUDO E AMOSTRAGEM.....	36
3.4.2. COLETA DE SANGUE.....	36
3.4.3. DIAGNOSTICO DE LENTIVIRUS DE PEQUENOS RUMINANTES.....	36
3.4.4. AVALIAÇÃO DE BEM-ESTAR ANIMAL.....	37
3.4.5. QUESTIONÁRIO ZOOSANITÁRIO.....	38
3.4.6. ANALISE ESTATISTICA.....	38
3.5. RESULTADO.....	38
3.6. DISCUSSÃO.....	40
3.7. CONCLUSÃO.....	43
3.8. REFERENCIAS.....	44
CONCLUSÕES GERAIS.....	53
ANEXO.....	54

.

INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, a caprinocultura leiteira é uma atividade importante pela geração de renda, emprego e sustento para as famílias, especialmente nos pequenos estabelecimentos rurais, que vem se destacando na agropecuária brasileira (Santos et al., 2017). Dados recentes indicam que os rebanhos caprinos são estimados em mais de 12,1 milhões de cabeças distribuídos em todo o território nacional (IBGE, 2021). Mesmo com o crescimento, esse setor enfrenta desafios em aspectos relacionados a características próprias dos caprinos, problemas com manejo nutricional, manejo sanitário e até mesmo na cadeia do agronegócio como mão-de-obra especializada e mercado (Santos et al., 2017).

Diante desse cenário, problemas relacionados à sanidade animal são comuns dentro do sistema produtivo, principalmente em relação a algumas enfermidades que resultam em perdas econômicas significativas devido à redução da produção, do ganho de peso e dos índices reprodutivos, além de prejudicar diretamente o bem-estar animal. (Souza et al., 2018). Doenças como a Artrite- Encefalite Caprina (CAE), apresenta alta prevalência em rebanhos caprinos leiteiros nacionais, sendo causada por um retrovírus pertencente ao grupo dos Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR). Caracteriza-se por manifestações multissistêmica e progressiva, levando ao aparecimento de artrite crônica nas articulações, mastite, problemas pulmonares e encefalite em animais jovens (Pinheiro et al., 2012). Esses sintomas podem persistir por toda a vida do animal, causando dor e sofrimento, afetando assim seu bem-estar animal.

Outra enfermidade que é comum no âmbito produtivo é a Linfadenite Caseosa. Definida como uma doença contagiosa e crônica, que acomete caprinos e ovinos, caracterizada por lesões purulentas e caseosas nos linfonodos ocasionando queda na produção de leite, carne e de couro (Sá et al., 2018).

A ineficiência do manejo sanitário de um rebanho resulta em enfermidades que acarretam não somente queda na produção, como a ausência de bem-estar dos animais, pois os problemas clínicos podem ser intensas e/ou perdurar pela vida toda do animal, trazendo consequências éticas e prejuízos para a economia do empreendimento. A adoção de práticas sanitárias propicia um sistema de produção eficaz, aumento na produtividade do rebanho, e melhora as condições de vida dos animais e do ser humano.

1.1. Objetivo Geral:

Avaliar rebanhos caprinos leiteiros contaminados naturalmente com o Lentivírus de Pequenos Ruminantes e o *Corynebacterium pseudotuberculosis*, quanto aos parâmetros clínicos e sua relação com o bem-estar animal dentro do âmbito produtivo em diferentes regiões do Brasil

1.2. Objetivos Específicos:

- Avaliar a susceptibilidade de caprinos portadores do LVPR a Linfadenite Caseosa;
- Analisar os parâmetros clínicos de caprinos de rebanhos contaminados com o LVPR;
- Detectar a presença de anticorpos anti LVPR (WB e IDGA) e do vírus (PCR*n*) de caprinos leiteiros, associando com aos sinais clínicos da CAE;
- Avaliar influência da LVPR sobre o bem-estar animal.

REFERENCIAS

Santos, L., Dos Santos, D. S., Da Silva, E. R., Da Silva, J. K. B., Da Silva, G. A., Vieira, G. M. N., Moreno, G. M. B., 2017. Desenvolvimento e zoometria de caprinos leiteiros jovens de diferentes grupos genéticos. Pubvet, 12, (2), 150.

IBGE. Pesquisa da Pecuária Municipal, 2021. Efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho.
Disponivel em< https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado> Acesso em: 10 out.2021.

Souza, T. S. D., Pinheiro, R. R., Lima, C. C. V. D., Brito, R. L. L. D., Azevedo, D. A. A. D., Dias, R. P., Costa, J. N.,2018. Infecção de ovinos pelo lentivírus caprino. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, 19, (3),268-276.

Pinheiro, R. R, Andrioli, A, Sider, L. H., Santiago, L. B., Oliveira. E. L., Sousa, A. L. M., Alves, F. S. F., Cruz. J. C. M., 2012. Lentiviroses em pequenos ruminantes: principais métodos de diagnóstico. Comunicado Técnico EMBRAPA,107, 1-32.

De Sá, M. D. C. A., Rocha Filho, J. T. R., Rosa, D. S., de Sá Oliveira, S. A., Freire, D. P., Alcantara, M. E., Meyer, R., 2018. Linfadenite caseosa em caprinos e ovinos: Revisão.

CAPÍTULO I

2. ESTUDO DA COINFECÇÃO DE CAPRINOS LEITEIROS INFECTADOS COM LENTIVÍRUS DE PEQUENOS RUMINANTES E *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Artigo a ser encaminhado ao Periódico: Tropical Animal Health and Production (ISSN: 1573-7438)
Qualis: B1 na Zootecnia
Fator de Impacto: 1.5

Estudo da Coinfecção de caprinos leiteiros infectados com lentivírus de pequenos ruminantes e *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Co-infection study of dairy goats infected with small ruminant lentiviruses and *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Bárbara Karen Marques Mendes[1], Raymundo Rizaldo Pinheiro[2], Lúcia Helena Síder[2], Dalva Alana Aragão Azevedo[3], Ana Milena César Lima[4], Alice Andrioli Pinheiro[2]

2.2. RESUMO

Objetivou-se avaliar a susceptibilidade de caprinos positivos ao LVPR, ao *Corynebacterium pseudotuberculosis*, em duas regiões do Brasil. Para isso, testou-se 1010 amostras de sangue de caprinos de 12 rebanhos leiteiros para detecção de anticorpos anti-virais LVPR por IDGA e *Western Blot* (WB), e para a pesquisa do DNA proviral por PCR*n*. Para detecção de anticorpos contra o *C. pseudotuberculosis* utilizou-se o teste de ELISA indireto. Dos animais soropositivos (405/1010) ao LVPR pelo teste de IDGA, 53,33% (216/405) foram soro-positivos para *C. pseudotuberculosis* (P<0,01), assim como no WB (51,28%; 260/507), (P<0,05). Enquanto, que dos 284 animais positivos no PCR*n* (28,12%; 284/1010) ao LVPR e negativos aos testes sorológicos, 45,48% animais reagiram ao ELISA para *C. pseudotuberculosis*. Concluímos que animais sorologicamente reativos ao LVPR têm possível predisposição para a infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis.*

Palavras-chave: Artrite Encefalite Caprina, Linfadenite caseosa, imunidade

2.3. ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the susceptibility of Small Ruminant Lentivirus (SRLVs) positive goats to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in two regions of Brazil. For this, 1010 blood samples from goats from 12 dairy herds were tested for detection of anti-viral LVPR antibodies by AGID and Western Blot (WB), and for the research of proviral DNA by PCR*n*. For detect antibodies against *C. pseudotuberculosis*, used the indirect-ELISA test. Of the animals seropositive (405/1010) to SRLVs by the AGID test, 53.33% (216/405) were seropositive for *C. pseudotuberculosis* (P<0.01), as well as for WB (51.28%; 260/ 507), (P<0.05). While, of the 284 animals positive in nPCR (28.12%; 284/1010) to SRLVs and negative to serological tests, 45.48% of animals reacted to the ELISA for *C. pseudotuberculosis*.

We conclude that serologically reactive animals to SRLVs have a possible predisposition to infection by *Corynebacterium pseudotuberculosis.*

Keywords: Caprine Arthritis Encephalitis, Caseous lymphadenitis.

2.4. INTRODUÇÃO

A caprinocultura leiteira é uma atividade em evolução, no Brasil e apresenta-se como uma importante fonte de renda e de proteína animal com custo relativamente baixo (Felisberto et al., 2016). Apesar dos significativos avanços na produção leiteira no país existem problemas como a incidência de enfermidades infectocontagiosas, em especial da Artrite Encefalite Caprina (CAE) e da Linfadenite Caseosa (LC). Essas enfermidades são, pela alta incidência e pelas perdas produtivas, os principais problemas infecciosos dos caprinos (Martínez-Navalón et al., 2013).

A CAE é uma enfermidade de caráter multissistêmico e degenerativa, causada pelo Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR), um vírus RNA pertencente ao gênero Lentivírus, e a família Retroviridae (Nascimento-Penido et al., 2017). Os sinais clínicos estão ligados a resposta imunológica, sendo que animais acometidos podem ser assintomáticos no início da infecção (Minguijón et al., 2015), mas podem evoluir para casos de mastite, artrite, pneumonia e severo emagrecimento (Tariba et al., 2017). Encefalite pode ocorrer raramente nos animais jovens (Pinheiro et al., 2012). A transmissão pode ocorrer pelo contato direto e, principalmente, pela via digestiva, através da alimentação do colostro e leite de animais contaminados (Villoria et al., 2013). Ocorre ainda, pela via iatrogênica e através de secreções sexuais, como sêmen e fluídos uterinos e vaginais (Cortez-Romero et al., 2013).

O diagnóstico indireto é realizado através da sorologia pelos testes de Imunodifusão em gel de Agarose (IDGA) e/ou pelo teste *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA). No entanto, o teste de Western Blot (WB) tem sido uma alternativa eficaz na detecção de anticorpos anti o LVPR, devido a sua eficácia e sensibilidade para identificar animais soropositivos (Peixoto et al., 2018). A detecção de animais portadores do vírus, a partir de testes sorológicos é uma prática importante para conhecer a prevalência, a incidência, disseminação do vírus e para as adoções de medidas preventivas.

A Linfadenite Caseosa (LC) é uma doença que afeta os pequenos ruminantes, com alta prevalência em diversas regiões brasileiras, atingindo até 98% de propriedades (Seyffert et al., 2010). É uma enfermidade altamente contagiosa, que tem como agente

causador a bactéria Gram positiva *Corynebacterium pseudotuberculosis* (Oreiby, 2015), responsável pela presença de abscessos em linfonodos superficiais ou profundos em vários órgãos. Ela acarreta perdas produtivas ao longo da produção e de animais, como também é uma causa de condenação de carcaças (Souza et al., 2011; Faccioli-Martins, et al., 2014). Sua transmissão ocorre principalmente através de lesões na pele, ingestão de alimentos contaminados e inalação de partículas infectadas oriundas de abscessos purulentos (Veschi et al., 2015). O diagnóstico de animais infectados por *C. pseudotuberculosis* pode ser realizada por meio do isolamento e identificação do agente. Enquanto na detecção de anticorpos, o teste de ELISA é o mais utilizado devido à adequada sensibilidade e especificidade (Faccioli-Martins, et al., 2014).

Os agentes etiológicos da CAE e da LC possuem alguns pontos em comum quanto à patogenia nos caprinos, como o tropismo pelas células da série monócito-fagocitária (Blacklaws et al., 2012). Segundo Sanches et al. (2012), a ocorrência da intensidade da fagocitose de *C. pseudotuberculosis* por monócitos-macrófagos de cabras infectadas pelo LVPR, sugere que cabras infectadas com esses vírus podem ser mais suscetíveis ao *C. pseudotuberculosis*. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a susceptibilidade de caprinos leiteiros e portadoras do LVPR, à Linfadenite Caseosa.

2.5. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em rebanhos caprinos leiteiros do Brasil. A seleção das propriedades foi relacionada à importância econômica da atividade e a atuação na cadeia produtiva de caprinos leiteiros, envolvendo práticas de venda de animais, produção de leite e derivados. Assim como, no conhecimento acerca das enfermidades presentes nos rebanhos selecionados.

2.5.1. Caracterização do universo amostral

O estudo abrangeu 12 propriedades de produção de caprinos leiteiros, com sistemas de criação semiextensivo, de relevantes regiões do Brasil, as quais representam cerca de 94,54% do rebanho brasileiro.

Foram coletados um total de 1010 amostras de sangue de caprinos, sendo 921 fêmeas e 89 machos. Dentre as raças dos animais estudados 740 Saanen (73,3%), 156 Toggenburg (15,4%), 80 Anglo Nubiano (7,9%), 30 Parda Alpina (2,9%) e quatro animais (0,4%) mestiços (Saanen e Pardo Alpina).

Ressalta-se que todas das propriedades visitadas possuíam histórico de animais com sintomatologia referente à CAE, incluindo dificuldade de locomoção, aumento da região do carpo e quadros de artrite, bem como relato de casos de Linfadenite Caseosa.

2.5.2. Amostragem e delineamento estatístico

O número mínimo de propriedades a serem visitadas foi calculado com o uso da fórmula para amostras simples aleatórias (Thrusfield, 2007), levando-se em consideração os seguintes parâmetros: prevalência de propriedades com animais soropositivos de 98% (Seyffert et al., 2010), erro amostral de 5% e nível de confiança de 95%. Os dados foram avaliados estatisticamente por testes não paramétricos de qui quadrado e nível de significância de 5%.

2.5.3. Coletas de sangue e processamento das amostras

As coletas de sangue foram realizadas no período entre junho 2016 a outubro de 2017. A obtenção do sangue foi realizada uma vez em cada animal mediante punção da veia jugular, por sistema a vácuo, em dois tubos de 10 ml com anticoagulante de cada animal (Ethylenediaminetetraacetic acid – EDTA) e uso de agulhas descartáveis. As amostras passaram por centrifugação a 1500 g por 10 minutos em centrífuga não refrigerada para separação do plasma sanguíneo e camada de leucócitos, que foram transferidos para microtubos do tipo Eppendorf® e devidamente identificados. A camada de leucócitos obtida foi armazenada juntamente com 600 µL de cloreto de amônia em cada microtubo que por sua vez, foram acondicionados em freezer a -6 °C.

Após o congelamento, as amostras foram transferidas a embalagens isotérmicas e encaminhados a EMBRAPA Caprinos e Ovinos em Sobral, Ceará, onde foram estocadas a -20°C até a realização dos testes de diagnóstico. O plasma foi utilizado para detecção de anticorpos contra o LVPR pelas técnicas de diagnóstico *Imunodifusão em Gel de Agarose e Western Blotting,* já os leucócitos foram utilizados na PCR*n* para detecção do DNA proviral. As mesmas amostras de plasma sanguíneo foram submetidas ao teste de ELISA-indireto para diagnóstico da Linfadenite Caseosa.

2.5.4. Testes laboratoriais

Teste de Imunodifusão em Gel de Agarose

Na detecção de anticorpos contra lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR) o plasma sanguíneo dos animais experimentais foi submetido à microtécnica de

imunodifusão em gel de agarose (IDGA) conforme metodologia de Pinheiro et al. (2010). A partir de sobrenadante viral oriundo da estirpe do CAEV-Cork (amostra viral padrão gentilmente cedida pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, oriunda do *Labo-ratoireAssocié de Recherchessurles Petits Ruminants*– INRA – ENVL – France) foram produzidos os antígenos para as técnicas de IDGA realizada por ultrafiltração no sistema AMICON© (Pinheiro et al., 2010).

Teste Western Blotting (WB)

Para detecção de anticorpos anti-CAEV foi utilizado o teste de WB seguindo o protocolo de Rodrigues et al. (2014). O antígeno foi produzido a partir de sobrenadante viral oriundo da estirpe do CAEV-Cork e purificado por ultracentrifugação em gradiente de sacarose seguindo o método de Dantas et al. (2008). Primeiramente, realizou-se eletroforese SDS-PAGE com géis de concentração e separação a 4% e 12,5%, respectivamente.

Em seguida ocorreu a transferência passiva das proteínas contidas no gel para membrana de nitrocelulose, sendo posteriormente bloqueadas com PBS Tween a 0,3%. A técnica foi realizada com diluições de soro de 1:50 e conjugado rabbitanti-goat IgG peroxidase (Sigma® cat. A5420) de 1:15000. A revelação das bandas de proteína ocorreu ao abrigo da luz, com os substratos 4-Cloro-1-Naphthol e 3,3' Diaminobenzidine (DAB), com H^2O^2 a 30%. A reação foi bloqueada com adição de água destilada.

Teste de Reação em Cadeia da Polimerase *Nested* (PCR*n*)

Tabela 1. Sequencias dos *primers* usados na Reação em Cadeia da Polimerase *Nested* (PCR*n*) com o tamanho dos fragmentos amplificados.

Gene *Gag*	*Primers*	Sequências 5' → 3'	Fragmentos (pb)
1º *round*	*Gag* 1	CAAGCAGCAGGAGGGAGAAGCTG	297
	Gag 2	TCCTACCCCCATAATTTGATCCAC	
2º *round*	*Gag* 3	GTTCCAGCAACTGCAAACAGTAGCAATG	185
	Gag 4	ACCTTTCTGCTTCTTCATTTAATTTCCC	

Fonte: Azevedo et al., 2019.

Teste ELISA indireto

Diagnóstico de Linfadenite Caseosa

Para detecção de anticorpos anti-*C. pseutubersulosis* utilizou-se o teste de ELISA-indireto de acordo com a metodologia descrita por Carminati (2003) e com adaptações realizadas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Caprinos e Ovinos, Sobral-CE). A cepa 02/2014 (BRM 029971) de 72 horas em caldo BHI (*Brain Heart Infusion Broth* - Acumedia®) adicionado de 0,1% de Tween 80 (Paule et al., 2004), foi utilizada para produção do antígeno utilizado no teste. Os resultados de sensibilidade e especificidade do teste foram de 93,5% e 99,0%, respectivamente (Farias et al., 2018).

2.5.5. Análise estatística

Realizou-se o estudo dos resultados obtidos nos testes de IDGA e WB. Foram avaliados sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo, e eficiência (habilidade do um teste identificar corretamente todos os indivíduos positivos e negativos). Os resultados dos testes foram comparados através do teste de Qui-quadrado. Os dados foram analisados estatisticamente utilizando os programas Epi-info 7.08 e Win Episcope 2.09. Os dados foram avaliados estatisticamente por testes não paramétricos de qui-quadrado e nível de significância de 5%.

2.6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as 12 fazendas avaliadas nas diferentes regiões brasileiras apresentaram animais positivos nos três testes para o diagnóstico do LVPR, enquanto em 11 das fazendas (91,7%) manifestaram-se caprinos com anticorpos anti-*C. pseudotuberculosis*, pelo teste de ELISA com positividade em 48,02% dos animais testados.

Das 1010 amostras coletadas, 405 (40,10%) apresentaram anticorpos para o LVPR, no teste de IDGA, sendo que destes animais soropositivos, 216 animais apresentaram resultado positivo também para LinfadeniteCaseosa, correspondendo assim a 53,33% (Tabela 2).

No teste de WB, caracterizado como um teste mais sensível aos níveis de anticorpos anti-LVPR, foram identificados 507 (50,20%; 507/1010) animais soropositivos. No ELISA para identificação de animais soropositivos para LC, 260 dos 507 caprinos WB positivos (51,28%) eram portadores de anticorpos contra o *C. pseudotuberculosis*.

Tabela 2. Teste de ELISA para o diagnóstico de LinfadeniteCaseosa em caprinos LV-PR soropositivos aos testes de IDGA e WB.

LinfadeniteCaseosa ELISA	Animais LVPR soropositivos			
	IDGA		WB	
	n/N	%	n/N	%
Positivo	216/405	53,33[a]	260/507	51,28[a]
Negativo	189/405	46,67[b**]	247/507	48,72[b*]

N – Número total de animais testados; n – Número de animais com determinado resultado; Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferença estatística significativa **(P<0,01) ou *(P<0,05).

Estão dispostos na tabela 3, os resultados referentes aos animais portadores do LVPR pelo teste de PCR*n* (28,12%; 284/1010) e testados no ELISA para diagnóstico da Linfadenite Caseosa. Constatamos que dos 284 caprinos positivos no PCR*n*, 53,52% (152/284) não apresentaram anticorpos contra *C. pseutuberculosis*, enquanto 45,48% foram diagnosticados como positivos para LC.

Tabela 3. Testes de LinfadeniteCaseosa, por ELISA, em caprinos portadores do LVPR pelo teste de PCR*n*

Linfadenitecaseosa ELISA	Animal LVPR positivos no PCR*n*	
	n/N	%
Positivo	132/284	45,48[a]
Negativo	152/284	53,52[a]

N: Número total de animais testados; n: Número de animais com determinado resultado; a: Não diferiu (P≥0,05).

Para uma melhor avaliação dos resultados apresentados em relação às respostas imunes, os animais, com resultado positivo para LVPR, foram classificados da seguinte forma: Infectado sem resposta imune: PCR (+); IDGA (-) e WB (-); Sororeagente com resposta imune fraca (com baixos níveis de anticorpos anti-LVPR): WB (+) e IDGA (-); e Sororeagente com resposta imune forte (com altos níveis de anticorpos anti-LVPR): IDGA (+).

Essa classificação foi baseada no trabalho de Pinheiro et al. (2012), onde os autores realizaram diluições seriadas de um pool de soros de animais positivos e

constataram que o WB tem capacidade de detectar anticorpos numa diluição de até 128 vezes maior que o IDGA. Salienta-se que o teste WB conseguiu, nesse trabalho, detectar todos os animais IDGA positivos.

De acordo com os resultados apresentados, animais infectados pelo LVPR podem apresentar maior susceptibilidade à infecção por *C. pseudotuberculosis*. Nesse estudo foi visto que os animais soropositivos ao LVPR tanto pelo teste de IDGA ($P<0,01$) como pelo teste WB ($P<0,05$) apresentaram maior predisposição à infecção por *C. pseudotuberculosis*. Constatou-se que é maior o número de animais soropositivos para Linfadenite Caseosa ($P<0,01$) em animais infectados com LVPR com uma resposta imune forte (com altos níveis de anticorpos anti-LVPR). O número de animais infectados com *C. pseudotuberculosis* não diferiu ($P\geq0,05$) dos animais PCR*n* positivos para LVPR e soronegativos tanto no IDGA como no WB.

Os agentes etiológicos da CAE e da LC possuem alguns pontos em comum quanto à patogenia nos caprinos, como o tropismo pelas células da série monocítico fagocitária (Blacklaws et al., 2012). Estas células albergam locais de replicação e carreiam estes patógenos para diferentes tecidos do hospedeiro. Segundo Jarczak, (2016) e Pyrah e Watt, (1996), macrófagos infectados e não infectados com LVPR mostraram diferentes padrões de expressão de citocinas em resposta à infecção por outros patógenos. Isso pode significar que a presença de lentivírus nos macrófagos desregula seu funcionamento. Corroborando com essas observações a ocorrência do aumento na intensidade da fagocitose de *C. pseudotuberculosis* por monócitos macrófagos de cabras infectadas pelo vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV), sugere que cabras infectadas com CAEV podem ser mais suscetíveis a LC (Sanches et al., 2012).

Apesar de alguns estudos demonstrarem fatores possivelmente envolvidos na resistência imunológica e/ou na participação da resposta imune do hospedeiro à infecção, ou ainda da biologia dos LVPR, não se tem ainda compreensão completa do modo como o sistema imunológico do hospedeiro responde a esta infecção (Jarczak et al., 2016; Larruskain e Jugo, 2013; Stonos et al., 2014).

Tanto a resposta imune inata como a adaptativa são induzidas pelas infecções por LVPR e LC. Macrófagos e células dendríticas são células importantes na interface do sistema imune inato e adaptativo, que atuam como células apresentadoras de antígenos para a estimulação de respostas de células T. Macrófagos e monócitos são os principais produtores de citocinas envolvidas na resposta a infecções intracelular

precoce (Biron, 1998), tais como os mecanismos envolvidos na alteração da expressão do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC), adesão e moléculas co estimuladoras, e diretamente ativando ou desativando células imunes. Os efeitos desses processos podem levar à ativação de respostas celulares envolvendo células Natural Killer e linfócito T citotóxico, e liberação de vírus mediada por anticorpos (Ramshaw et al., 1997). A infecção por LVPR pode interferir na função dessas importantes células e, assim, alterar os tipos de respostas imunológicas induzidas (Blacklaws, 2012).

Outras citocinas possivelmente alteradas no caso de coinfecção LVPR e LC são os intérferons alfa (IFN-α), beta (IFN-β) e IFN-γ. Elas são os responsáveis pela resposta a patógenos e parasitas bacterianos e virais. Estes intérferons são capazes de inibir a replicação viral, modular a imunidade, tanto os mecanismos inatos como a resposta adaptativa, exercendo influência antiproliferativa em alguns tipos de células (De Veer et al., 2001).

Em animais com LVPR, as interleucinas (IL) IL-1α, IL-1β e IL-6 tiveram sua expressão diminuída nos níveis de transcrição de proteína, e não houve nenhuma expressão de IFN-γ e do Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF-α) no nível de proteína no sangue total (Jarczak et al., 2016). A inibição de muitas expressões de citocinas no sangue pode indicar a supressão da resposta imune do organismo infectado por LVPR. Esta observação pode ser confirmada pelos resultados obtidos por Pyrah e Watt (1996), que apontaram que as ovelhas infectadas com LVPR têm uma menor resposta imune aos antígenos micobacterianos, o que pode ser o motivo pelo qual a imunidade do hospedeiro é afetada e possivelmente esteja ocorrendo em animais LVPR positivos portadores da LC.

A presença de animais infectados por essas duas enfermidades desperta a atenção para estudos relacionados à comorbidades em caprinos, de modo a analisar as consequências aos animais e compreender a sinergia entre os microrganismos. Além disso, animais infectados com duas ou mais doenças podem apresentar deficiência na produção de anticorpos, que deve ser considerada ao estudar coinfecções (Damasceno et al., 2020).

Nas criações de caprinos leiteiros, é comum a permanência dos animais por um longo período, aumentando assim, as chances de exposição a fontes infectantes (Souza et al., 2011; Moura et al., 2020). Destaca-se que a disseminação de doenças tem maior possibilidade de ocorrerem onde medidas sanitárias são carentes. Além disso, a presença de animais portadores e sua identificação, com a eliminação subsequente, são

essenciais para o controle e eliminação de reinfecção pelo agente (Faccioli-Martins et al., 2014).

As infecções cruzadas ocorrem em animais que vivem em condições naturais, o que sugere que são possíveis infecções de outras patologias com lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR). A falta de medidas eficazes de prevenção e controle de enfermidades pode possibilitar a ocorrência de coinfecções nos animais (Pisoni et al., 2007).

A presença de uma enfermidade no rebanho pode acarretar sintomas que podem ser confundidos com outras doenças, porém, as lesões causadas pelos lentivírus caracterizam-se pela migração/infiltração de células mononucleares e linfócitos para os tecidos (Brodie et al., 1998). Assim, as lesões são mais frequentes quando os sistemas imunes, humorais e celulares são estimulados. A replicação viral periódica e a maturação dos macrófagos induzem as lesões linfoproliferativas características nos tecidos-alvo (Azevedo et al., 2017). Desta forma, verificou-se alta soropositividade para as infecções por LVPR e por *C. pseudotuberculosis* em caprinos leiteiros dos rebanhos estudados. E animais reativos sorologicamente ao LVPR têm predisposição para a infecção pelo *Corynebacterium pseudotuberculosis*em todas as regiões estudadas.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Caprinos e Ovinos, ao Conselho Nacional e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelo apoio estrutural e financeiro, Contribuição dos Autores: Todos os autores participaram do desenvolvimento e execução da pesquisa. E, todos revisaram o manuscrito, leram e aprovaram a versão final.

DECLARAÇÃO DO USO DE ANIMAIS

A presente pesquisa seguiu os princípios éticos da experimentação animal, mediante submissão e aprovação do trabalho pelo Comitê de Ética do Uso de Animais da Embrapa Caprinos e Ovinos, sob o protocolo de número 13/2015.

CONFLITO DE INTERESSE

Declaramos não haver nenhum conflito de interesse.

2.7. REFERÊNCIAS

Azevedo, D. A. A. D., Santos, V. W. S. D., Sousa, A. L. M. D., Peixoto, R. M., Pinheiro, R. R., Andrioli, A., Teixeira, M. F. D. S., 2017. Small ruminant lentiviruses: economic and productive losses, consequences of the disease. Arquivos do Instituto Biológico, 84.

Blacklaws, B.A., 2012. Small ruminant lentiviruses: Immunopathogenesis of visna maedi and caprine arthritis and encephalitis virus. Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases, 35, (3), 259-269.

Biron, C. A., 1998. Role of early cytokines, including alpha and beta interferons (IFN-α/β), in innate and adaptive immune responses to viral infections. Seminars in Immunology, 10, 383- 390.

Brodie S.J., De La Concha-Bermejillo A., Snowder G.D., Demartini J.C., 1998.Current concepts in the epizootiology, diagnosis and economic importance of ovine progressive pneumonia in North America: A review. Small Ruminant Research. 27(1) 1-17.

Carminati, R., Ferreira, L., Costa, D.M., Jean, B., Paule, A., Vale, V.L., Regis, L., Schaer, R. and Meyer, R., 2003. Determinação da sensibilidade e da especificidade de um teste de ELISA indireto para o diagnóstico de linfadenite caseosa em caprinos. Revista de Ciências Médicas e Biológica, 2, 88–93.

Cortez-Romero, C., Pellerin, J. L., Ali-Al-Ahmad, M. Z., Chebloune, Y., Gallegos Sánchez, J., Lamara, A., Fieni, F., 2013. The risk of small ruminant lentivirus (SRLV) transmission with reproductive biotechnologies: State-of-the-art review. Theriogenology, 79, (1), 1-9.

De Azevedo, D. A. A., Pinheiro, R. R., Dos Santos, V. W. S., Damasceno, E. M., De Sousa, A. L. M., Araújo, J. F., Teixeira, M. D. S., 2019. Comparação de testes sorológicos e molecular para diagnóstico da Artrite Encefalite Caprina e avaliação clínica da glândula mamária de caprinos leiteiros infectados. Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em periódico indexado (ALICE).

De Veer, M. J., Holko, M., Frevel, M., Walker, E., Der, S., Paranjape, J. M, Silverman, R.H., Williams, B.R.G., 2001. Functional classification of interferonstimulated genes identified using microarrays. Journal of leukocyte biology, 69, (6),912– 920.

Damasceno, E. M., Pinheiro, R. R., Andrioli, A., Alves, F. S. F., Lima, A. M. C., Peixoto, R. M., Brandão, I. S., 2020. Seroprevalence and associated risk factors of *Mycoplasma agalactiae* and investigation of coinfection with the caprine lentivirus in Rio Grande do Norte, Brazil. Tropical Animal Health & Production, 52, (4).

Dantas, T. V. M., de Araújo, S. A. C., Pinheiro, R. R., Aragão, M. D. C., da Silva, J. B. A., Ricarte, A. R. F., Teixeira, M. D. S. 2008. Desenvolvimento e padronização de um Elisa indireto para diagnóstico de maedi visna em ovinos. Ciência Animal, 9, p.181-187.

Faccioli-Martins, P. Y., Alves, F. S. F., Pinheiro, R. R., 2014.Linfadenite caseosa: perspectivas no diagnóstico, tratamento e controle. Embrapa Caprinos e Ovinos Documentos (INFOTECA-E).

Farias, A. M., Alves, J. R. A., Alves, F. S. F., Pinheiro, R. R., Faccioli-Martins, P. Y., Lima, A. M. C., Azevedo, S. S., Alves, C. J., 2018.Soroprevalência Da Infecção Por *Corynebacterium pseudotuberulosis*. Em Caprinos No Nordeste Brasileiro Utilizando Técnica De Imunoabsorção Enzimática (ELISA-indireto). Pesquisa Veterinária Brasileira, 38, (7),1344-1350.

Felisberto, N. D. O., Oliveira, L., Cordeiro, A.,2016. Sistemas de produção de caprinos leiteiros. In: Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: WORKSHOP SOBRE PRODUÇÃO DE CAPRINOS NA REGIÃO DA MATA ATLÂNTICA,13.11-35.

Jarczak J, Kaba J, Reczyńska D, Bagnicka E., 2016. Impaired expression of cytokines as a result of viral infections with an emphasis on small ruminant lentivirus infection in goats. Viruses, 8, (7), 186.

Larruskain A, Jugo BM., 2013. Retroviral infections in sheep and goats: Small ruminant lentiviruses and host interaction. Viruses, (5) 2043–2061.

Marinho, R. C., Martins, G. R., Souza, K. C., Sousa, A. L. M., Silva, S. T. C., Nobre, J. A.,Teixeira, M. F., 2018. Duplex nested-PCR for detection of small ruminant lentiviruses. Brazilian journal of microbiology, 49, 83-92.

Minguijóna, E., Reinab, R., Pérezc, M., Polledod L., Villoria, M., Ramíreze H., Legina-goikoa, I., Badiola, J. J., García-Marínd, J, F., Andrésb D. D., Lujánf L., Amorenab, B., Juste R., A., 2015. Small ruminant lentivirus infections and diseases. Veterinary Microbiology, 181, (2), 75-89.

Moura, G. H. F., Lelis, I. C. N. G., Rocha, C. S. D., Oliveira, I. V. P. D. M., Bezerra, J. A. B., Calabuig, C. I. P., Antunes, J. M. A. D. P.,2020. Seroprevalence of *Corynebacterium pseudotuberculosis* and Toxoplasma gondii in sheep in semiarid region of Ceará state. Ciência Rural, 50 (9), 19-20.

Martínez-Navalón, B., Peris, C., Gómez, E. A., Peris, B., Roche, M. L., Caballero, C., Berriatua, E. 2013. Quantitative estimation of the impact of caprine arthritis encephalitis virus infection on milk production by dairy goats. The Veterinary Journal, 197, (2), 311-317.

Nascimento-Penido, P. M., Penido, A. O., Galinari, G. C., Heinemann, M. B., Leite, R. C., 2017. Ocorrência do vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) em cabras leiteiras produzidas em sistema intensivo confinado no estado de Minas Gerais. Pesquisa Veterinária Brasileira, (37), 577-581.

Oreiby, Atef F., 2015. Diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goat. Small Ruminant Research, 123, (1), 160-166.

Pyrah, I. T. G., Watt, N. J., 1996. Immunohistological study of the depressed cutaneous DTH response in sheep naturally infected with an ovine lentivirus (Maedi-Visna virus). Clinical and Experimental Immunology, 104, (1),32–36.

Peixoto, R. M., Andrioli, A., Pinheiro, R. R., Alves, F. S. F., Dos Santos, V. W. S., De Sousa, M. M., Teixeira, M. D. S., 2018. Mycoplasma agalactiae em rebanhos leiteiros no estado do Ceará em associação com o vírus da artrite encefalite caprina, 46, 15-33.

Pinheiro, R. R., Andrioli, A., Sider, L. H., Santiago, L. B., Oliveira. E. L., Sousa, A. L. M., Alves, F. S. F. E Cruz. J. C. M., 2012. Lentiviroses em pequenos ruminantes: principais métodos de diagnóstico. Comunicado Técnico EMBRAPA,107, 1-32.

Pinheiro, R. R., Andrioli, A., Gouveia, A. M. G., Aragão, M. A. C., Martinez, P. M., 2010. Avaliação de antígenos para o diagnóstico de lentivírus em rebanho caprino sobprograma de controle. Arq. Inst. Biol., 77, (1), 133-137.

Pisoni, G; Bertoni, G; Puricelli, M; Maccalli, M; Moroni, P., 2007. Demonstration of Coinfection with and Recombination by Caprine Arthritis-Encephalitis Virus and Maedi-Visna Virus in Naturally Infected Goats. Journal of virology, 81, (10), 4948–4955.

Paule, B. J. A., Meyer, R., Moura-Costa, L. F., Bahia, R. C., Carminati, R., Regis, L. F., Azevedo, V., 2004.Three-phase partitioning as an efficient method for extraction /concentration of immunoreactive excreted–secreted proteins of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Protein expression and purification, 34, (2), 311-316.

Ramshaw, I. A., Ramsay, A. J., Karupiah, G., Rolph, M. S., Mahalingam, S., Janet, C. R., 1997.Cytokines and immunity to viral Infections. Immunological Reviews. 159,119-135.

Rodrigues, A, S; Brito, R. L. L.; Pinheiro, R. R.; Dias, R. P.; Alves, S. M.; Souza, T. S.; Souza, K. C.; Azevedo, D. A. A.; Andrioli, A.; Magalhães, D. C. T.; Teixeira, M. F. S. 2014. Padronização do Elisa indireto e Western Blot para diagnóstico da artrite encefalite caprina, Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.,66, (2),417-424.

Sanches, B. G., Souza, F. N., Azedo, M. R., Batista, C. F., Bertagnon, H. G., Blagitz, M. G., Della Libera, A. M., 2012. Fagocitose intensificada de *Cornebacterium pseudotuberculosis* por células da série monócito-macrófago de caprinos naturalmente infectados pelo vírus da artrite encefalite. Pesquisa Veterinária Brasileira, 32, (12), 1225-1229.

Stonos N, Wootton SK, Karrow N., 2014. Immunogenetics of small ruminant lentiviral infections. Viruses 6: 3311–3333.

Seyffert, N., Guimarães, A. S., Pacheco, L. G. C., Portela, R. W., Bastos, B. L., Dorella, F. A., Azevedo, V. High.,2010. Seroprevalence of caseous lymphadenitis in Brazilian goat herds revealed by *Corynebacterium pseudotuberculosis* secreted proteins-based ELISA. Research in veterinary science, 88, (1), 50-55.

Souza, T. S. D., Pinheiro, R. R., Lima, C. C. V. D., Brito, R. L. L. D., Azevedo, D. A. A. D., Dias, R. P., Costa, J. N.,2018. Infecção de ovinos pelo lentivírus caprino. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, 19, (3),268-276.

Souza, M. D. F., Carvalho, A. Q. D., Garino Jr, F., Riet-Correa, F., 2011.Linfadenite caseosa em ovinos deslanados abatidos em um frigorífico da Paraíba. Pesquisa Veterinária Brasileira, 31, (3), 224-230.

Thrusfield, M., 2007. Veterinary epidemiology. Oxford: Blackwell Science.

Tariba, B., Kostelić, A., Roić, B., Benić, M., Šalamon, D., 2017. Influência da infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina na produção de leite de cabras alpinas francesas na Croácia. Mljekarstvo/Dairy, 67, (1).

Veschi, J. L. A., Ramos. E. M., Zafolon. L.F., 2015.Linfadenite caseosa: sinais clínicos, localização dos principais linfonodos acometidos, recomendações para prevenção e controle. Instruções Técnicas da Embrapa Semiárido.

CAPÍTULO II

3. PARÂMETROS CLÍNICOS DE CAPRINOS LEITEIROS CONTAMINADOS COM O LENTIVIRUS DE PEQUENOS RUMINANTES (LVPR) E SUA RELAÇÃO COM O BEM-ESTAR ANIMAL

Periódico: Journal of Veterinary Behavior (ISSN: 1558-7878)
Qualis: B1 na Zootecnia
Fator de Impacto: 1.590

Parâmetros clínicos de caprinos leiteiros contaminados com o lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR) e sua relação com o bem-estar animal

Evaluation of clinical parameters of goats from herds contaminated with small ruminant lentivirus (LVPR) and its relationship with animal welfare

Bárbara Karen Marques Mendes[1], Raymundo Rizaldo Pinheiro[2], Lúcia Helena Síder[2], Dalva Alana Aragão Azevedo[3], Ana Milena César Lima[4], Alice Andrioli Pinheiro[2]

[1]Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual Vale do Acaraú, Avenida da Universidade, 850, Campus Betânia, 62040-370, Sobral, Ceará, Brasil.
[2]Departamento de Saúde Animal, Embrapa Caprinos e Ovinos / CNPC, Estrada Sobral - Groaíras, Campo, 62010-970, Sobral, Ceará - CE, Brasil.
[3]Departamento de Virologia, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil.
[4]Departamento de Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Ininga, S/N, Campus Ministro Petrônio Portela, 64049-550, Teresina, Piauí, Brasil.
*Autor correspondente: Bárbara Karen Marques Mendes, Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual Vale do Acaraú, Avenida da Universidade, 850, Campus Betânia, 62040-370, Sobral, Ceará, Brasil. Tel: +55 88 997209364, E-mail: barbara-karen@hotmail.com

DESTAQUE

- Avaliação de bem-estar animal perante os sintomas relacionados à LVPR;
- Complicações relacionadas às LVPR;
- Diagnósticos de animais contaminados através de diferentes testes de diagnóstico.

ABSTRACT:
Caprine arthritis encephalitis is widespread in most Brazilian herds, affecting goats and causing clinical signs that can harm their welfare animal within its production environment. Therefore, the objective was to evaluate the parameters clinical findings of Small Ruminant Lentivirus (SRLVs) contaminated animals and their relationship to animal welfare. Were submitted 1189 animals to diagnostic tests for SRLVs by the techniques of WB, AGID and *n*PCR, and the presence of clinical signs related to the disease were evaluated. SRLVs infected animals had lean body score or obese. Pul-

monary symptoms were not related to the disease, however joint problems were evident in animals positive to serological tests. Animals positive by the WB test, presented mostly (67.8%) the clinical joint index changed. As for the manifestation of pain in the joints, it was observed that it was present in animals SRLVs positive for AGID and WB (54.6% and 65.3%, respectively). The direct relationship of the joint index was evidenced clinical with the symptom of pain. We concluded that animals that were conta-minated with the SRLVs, had obvious symptoms that were harmful to their animal health and animal welfare.

Key words: Caprine arthritis encephalitis, serological diagnosis, *n*PCR.

RESUMO:

A artrite encefalite caprina está disseminada na maioria dos rebanhos leiteiros brasileiros, acometendo os caprinos e causando alterações clínicas que podem prejudicar seu bem-estar animal dentro do seu ambiente de produção. Diante disso, objetivou-se avaliar os parâmetros clínicos de animais contaminados com Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR) com relação ao bem-estar animal. Foram submetidos 1189 animais, aos testes de diagnóstico para LVPR pelas técnicas de WB, IDGA e PCR*n*, e foram avaliados a presença de sinais clínicos relacionados com a doença. Os animais infectados pelo LVPR apresentaram escore corporal magro ou obeso. Os sintomas pulmonares não foram relacionados com a enfermidade, porém problemas articulares foram evidentes nos animais positivos aos testes sorológicos. Animais positivos pelo teste de WB apresentaram em sua maioria (67,8%) o índice articular clínico alterado. Quanto à manifestação de dor nas articulações, observou-se que esteve mais presente em animais LVPR positivos para o IDGA e WB (54,6% e 65,3%) respectivamente. Foi evidenciada a relação direta, do índice articular clínico com sintomas de dor. Concluímos que os animais que estavam contaminados com o LVPR tiveram sintomas evidentes e prejudiciais à saúde e seu bem-estar animal.

Palavra-chave: Artrite encefalite caprina, diagnóstico sorológico, PCR*n*.

INTRODUÇÃO

A viabilidade econômica da exploração caprina é restringida devido a fatores como nutrição, sanidade e manejo inadequado os quais não sendo realizados de forma

adequada determinam perdas produtivas e reprodutivas, além do detrimento no bem-estar animal (BEA), consequentemente, não conseguem expressar seu potencial genético, causando prejuízos econômicos para o produtor (Lima et al., 2010).

O bem-estar animal pode estar relacionado com o ambiente onde os animais são criados, os quais podem ser fontes de estresse, levando a problemas fisiológicos e comportamentais (Ricci et al., 2017). No momento que o animal se adapta e produz bem no ambiente em que vive, apresentando-se saudável, livre de dor, bem alimentado, protegido de situações extremas (calor ou frio), e de modo a expressar seu comportamento natural, caracteriza perfeitamente um estado de bem-estar animal (Pinheiro et al., 2009).

Nesta perspectiva, animais portadores de enfermidades insidiosas e crônicas como a artrite encefalite caprina (CAE), que é uma doença de difícil controle, incurável e altamente transmissível (Bezerra et al., 2014), poderá impactar severamente no BEA, principalmente pelo fato de muitos produtores manterem animais infectados pelo LVPR no rebanho, apesar das perdas na produção e qualidade do leite (Brito, 2009), pois a CAE pode ser assintomática num período inicial (Martínez-Navalón et al., 2013), mas geralmente evolui para quadros clínicos altamente prejudiciais ao bem-estar animal (Górecka-Bruzda et al, 2019). Além disso, o próprio plano de controle do LVPR prejudica o bem-estar animal, pois uma das suas recomendações é a separação materno-filial ao parto, o que exerce níveis elevados de estresse, principalmente para as crias (Lopes et al., 2021).

O LVPR, após penetrar no organismo e infectar principalmente as células alvo, que são os monócitos, macrófagos e células dendríticas (Reilly et al., 2004), se direciona para os linfonodos regionais causando infecção dos macrófagos, que atinge os tecidos (Blacklaws, 2012).

Portanto, quando os monócitos chegam aos tecidos e se transformam em macrófagos, o vírus se reproduz fortemente, induzindo a uma resposta imune forte, responsável pelo processo inflamatório. Após os macrófagos serem infectados, produzem uma proteína viral que por sua vez, estimula a produção de citocinas pelos linfonodos T. O macrófago infectado também fica mais suscetível a sofrer ativação, induzindo a proliferação de linfonodos e macrófagos (Reilly et al., 2004).

Consta que o DNA proviral dos LVPR escapa do sistema imunológico por persistir nos monócitos, possibilitando assim a disseminação viral para os tecidos alvos (Larruskain et al., 2013). Macrófagos e células dendríticas são células importantes em

todo o sistema imunológico, agindo como apresentadoras de antígeno e estimulando a resposta de células T. Portanto, a infeção pode interferir na função dessas células importantes, e assim prejudicar os tipos de resposta imune que são induzidas (Blacklaws, 2012).

Os sinais clínicos neurológicos da CAE podem surgir, embora raro, em cabritos nos seus primeiros meses de vida, mas ao decorrer do tempo, quando o animal chega à fase adulta, ocorrem problemas nas articulações, como artrite, os quais podem evoluir de forma mais rápida ou lenta (Veschi et al., 2011). Casos mais graves de artrite podem surgir dos 10 meses até os 8 anos de idade do animal (Lara et al., 2005).

A CAE afeta o sistema respiratório dos animais manifestando sintomas de dificuldade para respirar, tosse, secreção nasal e pneumonia intersticial. Já nas fêmeas pode ser notadas inflamações nas glândulas mamarias endurecimento do úbere e diminuição na produção de leite (Veschi et al., 2011). A CAE ela predomina principalmente em países onde a produção de caprinos assume um papel importante gerando emprego e renda para os produtores (Cavalcante et al., 2013).

Muitos produtores têm mantido animais infectados com o CAEV no rebanho mesmo quando diagnosticados como portadores do vírus, sejam eles assintomáticos ou não, pois a perda econômica e genética poderia inviabilizar a atividade. Entretanto, como a enfermidade evolui para quadros clínicos altamente prejudiciais ao bem-estar animal, é importante a conscientização dos produtores sobre este aspecto (Rodrigues et al., 2018).

Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar os parâmetros clínicos de dores articulares, Índice articular clínico, escore corporal e sintomas pulmonares de animais contaminados com a LVPR e sua relação com seu bem-estar animal.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e amostragem

Foram selecionadas 12 propriedades com representatividade na produção de leite caprino do Brasil, as quais representam cerca de 94,54% do rebanho caprino brasileiro. Utilizou-se um total de 1096 fêmeas, 12 machos jovens e 83 reprodutores, totalizando 1191 animais de raça de aptidão leiteira submetidos a sistema intensivo de produção, e com idade a partir de 12 meses. Considerando o efetivo de rebanho caprino leiteiro, atrelado a importância econômica da atividade e a atuação na cadeia produtiva,

envolvendo práticas de venda de animais, produção de leite e derivados e no conhecimento acerca das enfermidades presentes nos rebanhos selecionados.

Os rebanhos estudados possuíam as seguintes raças de caprinos leiteiros: Saanen (74,01%), Toggenburg (14,13%), Anglo Nubiana (7,82%) e Parda Alpina (4,04%). Quanto a idade, observada pela dentição (Pugh; Baird et al; 2012), constatamos que 122 animais (10,26%) tinham menos que 18 meses de idade (primeira muda) e mais de 8 meses, e 1067 eram animais adultos (89,74%) e em relação ao sistema de criação, eram usados o sistema intensivo e semi-intensivo.

Coleta de sangue

Foram realizadas coleta de sangue de todos os animais dos rebanhos selecionados acima de oito meses de idade, no período de junho de 2016 a outubro de 2017 totalizando 1189 animais, sendo 1094 fêmeas (92,01%) e 95 machos (7,99%). As coletas foram realizadas uma única vez, mediante a punção da veia jugular, por sistema a vácuo, em dois tubos de 10 mL com anticoagulante (Ethylenediaminetetraaceticacid – EDTA) seguido de centrifugação a 1500 g por 10 minutos em centrífuga não refrigerada, com separação do plasma sanguíneo para realização dos testes sorológicos (IDGA e WB) e camada de leucócitos, para o teste de PCR, que foram devidamente transferidos, separadamente para micro tubos e identificados. As amostras foram armazenadas a -6°C e encaminhadas a EMBRAPA Caprinos e Ovinos em Sobral, Ceará, onde foram devidamente estocadas a -20°C até a realização dos testes de diagnóstico.

Diagnóstico de Lentivírus de Pequenos Ruminantes

Teste de Imunodifusão em Gel de Agarose

Na detecção de anticorpos contra lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR) o plasma sanguíneo dos animais experimentais foi submetido à microtécnica de imunodifusão em gel de agarose (IDGA), conforme metodologia de Pinheiro et al. (2010). A partir de sobrenadante viral oriundo da estirpe do CAEV-Cork (amostra viral padrão gentilmente cedida pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, oriunda do Laboratoire Associé de Recherches sur les Petits Ruminants – INRA – ENVL – France) foram produzidos os antígenos para as técnicas de IDGA realizada por ultrafiltração no sistema AMICON©.

Teste Western Blotting (WB)

Para detecção de anticorpos anti-CAEV foi utilizado o teste de WB seguindo o protocolo de Rodrigues et al. (2014). O antígeno foi produzido a partir de sobrenadante viral oriundo da estirpe do CAEV-Cork e purificado por ultracentrifugação em gradiente de sacarose seguindo o método de Dantas et al. (2008).

Teste de Reação em Cadeia da Polimerase Nested (PCRn)

A extração de ácido desoxirribonucléico (DNA) foi realizada a partir dos leucócitos extraídos das amostras sanguíneas dos caprinos amostrados neste estudo, seguindo metodologia padrão de Souza et al. (2018) e, posteriormente, submetidos ao teste de PCR (*n*PCR) para diagnóstico molecular (Marinho et al., 2018).

Avaliação do bem-estar animal

A avaliação clínica de cada animal foi realizada com a finalidade de detectar possíveis alterações articulares através do índice articular clínico (IAC), conforme metodologia de Pinheiro et al. (2005), o qual consiste na diferença entre a maior medida de circunferência dos carpos e a menor dos metacarpos, utilizando-se uma fita métrica. Com base no estudo de Pinheiro et al. (2005), o qual determinaram os valores normais das circunferências articulares do carpo e metacarpo de caprinos, considerando a faixa etária, o sexo e a raça classificaram o IAC em: normal, suspeito e alterado. Também foram computados animais que apresentaram inchaço nas articulações, manifestação dor nas articulações, como: reação ao toque, claudicação e dificuldade de se apoiar nos membros.

O escore de condição corporal (ECC) de todos os animais foi determinado, pela visualização e palpação do músculo e gordura da região lombar, entre os processos espinhosos dorsais e transversais (Pugh; Baird, 2012) (Tabela 1). Segundo esta metodologia, os animais são pontuados (de 1 a 5), sendo 1 considerado muito magro e 5 obeso. Quando o animal se situava entre uma e outra pontuação foi utilizada o incremento de 0,5 à menor pontuação. Como, em geral, o ideal é que o animal esteja entre as pontuações de “2,5” a “4,0”. Para efeito de análise, os animais foram divididos em três grupos: animais com escore corporal baixo com pontuação menor ou igual a

dois 2, animais com escore corporal desejável (2,5 a 4,0) e animais com escore corporal alto maior que 4,0.

No exame do sistema respiratório foram computados os seguintes sintomas: tosse, dispneia e presença de corrimentos nasais.

A avaliação da dor foi feita a partir da palpação nas articulações e comportamento do animal, através também da claudicação e desconforto.

Questionário zoosanitário

Os dados foram coletados por meio de questionários individuais aos proprietários ou responsáveis pelo rebanho. As perguntas foram formuladas para obter algumas informações gerais sobre a propriedade, aspectos de saúde, práticas reprodutivas e composição do rebanho. Os responsáveis para os preenchimentos dos questionários foram os técnicos da Embrapa Caprinos e Ovinos. As perguntas foram essenciais para avaliar o bem-estar animal que poderiam estar associados a presença da LVPR.

Análise estatística

Avaliaram-se os resultados obtidos nos testes de diagnóstico: IDGA, WB e PCR*n* frente aos sinais clínicos observados. Os índices (escore corporal e IAC) e os sinais/sintomas observados (alterações articulares e pulmonares) foram comparados através do teste de Qui-quadrado.

RESULTADOS

Os resultados dos testes de diagnóstico estão descritos da tabela 2, sendo que IDGA obteve soropositividade em 41,13% dos animais testados (489/1189), o teste de Western Blot de 51,47% (612/1189) e 69,47% (826/1189) de animais positivos para o PCR*n*, este último sendo considerado o teste mais sensível que os demais utilizados.

Considerando que um animal é portador do LVPR quando pelo menos um dos testes for positivo, verificou-se que 80,24% (954/1189) eram infectados com o LVPR, enquanto 19,76% (235/1189) foram negativos, nos três testes. O escore de condição corporal dos animais (ECC) (magro, normal e obeso) foi comparado aos diferentes testes de diagnóstico (Tabela 3). Observou-se, no diagnóstico pelo IDGA, maior prevalência da CAE no escore magro (40,6%) ou obeso (51,0%) diferindo dos animais com escorre normal ($P<0,01$).

Dentre os animais positivos pelo teste de WB, observou-se que 58,7% apresentavam escore obeso, diferindo dos animais positivos com escore normal (47,8%) ($P<0,05$). Já no teste de PCR*n*, 73,2% dos animais positivos apresentaram escore magro, diferente dos animais com escore normal (66,5%) ($p<0,05$).

Quando consideramos o animal como infectado (positivo a pelo menos um dos testes de diagnóstico) observou-se ($p<0,05$) entre os animais de escore magro e normal (escore magro: 83,5%; normal: 77,9%; e obeso: 81,4%).

Quanto a presença de animais com sintomas de doenças respiratórias nos rebanhos estudados, não foi observada relação com a positividade ao LVPR nos diferentes testes (Tabela 4), nem mesmo quando consideramos todos os animais positivos em pelo menos um teste.

Com relação ao IAC, as articulações foram classificadas como: alterada, suspeita e normal, e avaliadas quanto aos resultados dos testes de diagnóstico para o LVPR (Tabela 5). Observou-se que 54,5% dos animais com articulação alterada eram positivos no teste de IDGA, diferindo dos animais suspeitos (41,9%, $p<0,05$) e dos que apresentavam articulação normal (37,6%, $p<0,001$). O resultado foi similar quando comparamos o IAC com o teste de WB, onde a positividade em animais com IAC (67,8%) foi maior que, nos animais com IAC suspeito (51,9%; $p<0,05$) e normal (47,9%; $p<0,01$). No entanto, animais positivos ao teste de PCR*n*, não apresentaram diferenças significativas nos IAC. Nessa pesquisa constatamos que 40,71% dos animais avaliados apresentaram IAC alterado ou suspeito, sendo que destes 82,0% eram portadores do vírus, identificados por um dos três testes utilizados. No entanto, muitos destes animais positivos apresentaram IAC normal. Nos animais com PCR*n* positivos não se verificou diferença significativa ($p\geq0,05$) entre os resultados do IAC.

Na tabela 6, consta a relação entre os animais associados com as manifestações de dor ou não nas articulações, segundo os testes de diagnóstico utilizado. Constatamos que os animais positivos aos testes de IDGA e WB estavam relacionados a manifestações de dor nas articulações, 54,6% e 65,3%, respectivamente ($p<0,05$). No entanto, no PCR*n*, não houve diferença significativa entre os grupos ($p\geq0,05$).

Os resultados da Tabela 7 demonstram a relação entre o índice articular clínico e a presença de manifestação de dor pelos animais, sendo que 25,9% dos animais com IAC alterado apresentaram dor, diferindo dos suspeitos (7,9%) e dos animais com IAC normal (1,1%).

DISCUSSÃO

Evidenciou-se neste trabalho, que o LVPR está amplamente disseminado nos rebanhos caprinos leiteiros estudados, pois considerando a aplicação das três técnicas de diagnóstico simultaneamente, 80,24% dos animais eram portadores do vírus, o que está de acordo com outros estudos epidemiológicos nacionais que acusam uma alta prevalência em rebanhos leiteiros no Brasil (Nascimento-Penido et al., 2017), com implicações produtivas e econômicas (Azevedo et al., 2017).

Com relação aos testes sorológicos constatou-se que todos os animais positivos pelo teste de IDGA também foram pelo teste de WB, o que é esperado, pois o IDGA possui menor sensibilidade em comparação ao WB. Segundo Pinheiro et al. (2012), o WB tem a capacidade de detectar anticorpos numa diluição de até 128 vezes maior que o IDGA. Por outro lado, o teste de PCR*n*, detecta diretamente o DNA pró-viral presente nas células do sangue e não a resposta imunológica ao vírus, sendo importante na identificação inicial da infecção (Tigre et al., 2006). Além disso, animais infectados com os LVPR podem apresentar uma soroconversão tardia (Azevedo et al., 2019). A CAE é uma doença crônica e insidiosa, podendo demorar meses ou anos para manifestar sintomas clínicos, ou até mesmo não vir a manifestá-los, porém isto depende muito da variação individual entre os animais infectados. Dentre os sintomas clínicos da CAE são mais comuns a artrite, seguida de mastite, problemas respiratórios e emagrecimento progressivo (Gregory et al., 2009; Pinheiro et al., 2012).

O escore corporal, recurso utilizado para identificação do estado nutricional dos animais, é também um indicador de bem-estar animal (Battini et al., 2014), pois tanto o baixo, quanto o alto escore corporal possui impacto direto na saúde e no bem-estar dos animais. Caroprese et al. (2009), observaram que animais confinados possuem escore acima do normal pois, são privados de exercícios físicos. Por outro lado, o baixo escore corporal, pode evidenciar uma diminuição na ingestão de alimento, com risco de deficiência ou ser indicativo de doença metabólica e mal-estar (Vieira et al., 2015). As duas condições extremas de escore corporal, magro ou obeso, podem causar problemas no bem-estar (Plummer et al., 2021).

O baixo escore corporal pode estar relacionado também a doenças, como a Artrite Encefalite Caprina, o que foi comprovado nesta pesquisa nos animais positivos nos testes sorológicos e de PCR*n* ao LVPR. Os animais que são severamente

acometidos pela CAE diminuem a locomoção por sentirem fortes dores nas articulações e assim não conseguem se alimentar, por esse motivo perdem peso, permanecendo boa parte do dia deitados (Veschi et al., 2011)

Neste estudo observou-se também que, os animais positivos nos testes sorológicos apresentaram escore corporal acima do peso, indicando que pode haver uma correlação entre inflamação e excessos de gordura corporal, como observado em humanos (Nihi et al., 2010), sendo que o maior afluxo de monócitos e macrófagos para os tecidos, que são células de eleição dos LVPR, pode favorecer a multiplicação viral.

Nos rebanhos estudados foram observados animais com sintomas pulmonares, como tosse e dispneia, no entanto não estavam relacionados com a CAE, podendo estar relacionados a outros agentes patológicos ou a fatores, como broncopneumonias de causas diversas ou por corpos estranhos (Pugh, 2002; Ruffin, 2001).

Um fator que pode retratar o prejuízo ao bem-estar em rebanhos infectados com o LVPR é a ocorrência de problemas articulares (tabela 5). Para avaliação articular neste trabalho foi utilizado o IAC descrito por Pinheiro et al. (2005), bem como a apreciação da presença de desconforto articular, dor e claudicação.

Os animais positivos aos testes de IDGA e WB apresentaram um porcentual de articulações alteradas (54,5% e 67,8%, respectivamente) estatisticamente superior as articulações com o IAC normal ou suspeito. Já no teste de PCR*n*, não houve diferença significativa entre os animais positivos e os negativos quanto ao IAC. No entanto, constatamos que 40,71% do total animais avaliados nesta pesquisa apresentaram IAC alterado ou suspeito, o que representa uma incidência alta de problemas articulares nos rebanhos contaminados com o LVPR. Além disso, a maioria dos animais com problemas articulares eram portadores do vírus (82,0%), identificados por um dos três testes utilizados, apesar de alguns animais positivos apresentaram IAC normal, corroborando com a informação de que a CAE pode ser assintomática por meses e até anos (Larruskain et., 2013).

Em estudos feitos por Tariba et al. (2017), em 808 cabras da raça Alpina Francesa de fazenda de produção na Croácia, constatou-se pelo teste de ELISA, que 53,7% dos animais examinados foram diagnosticados como portadores do LVPR e que 22,47% destes animais expressaram artrite em pelo menos uma das articulações, sendo que 16,52% eram infectadas com o LVPR, enquanto 5,95% eram soronegativos.

O percentual alto das articulações alteradas pode ser explicado pelo fato de que a patogenia da CAE está relacionada a processos inflamatórios com a resposta imune

local, principalmente a mediada por macrófagos. Um dos locais do animal que mais sofre microprocessos inflamatórios são as articulações e, com isso, acontece a migração e ativação de macrófagos nesses tecidos, acarretando a multiplicação dos LVPR e desencadeando os processos patológicos. Esses dados explicam, em parte, o porquê de a artrite ser o problema mais comum da doença.

A forma articular da CAE é caracterizada pelo aumento do volume circular, principalmente, das articulações do carpo, ou de outras articulações, com o espaçamento da capsula articular, deposição de minerais e edema do tecido conjuntivo periarticular, resultando em sinais de complicações de locomoção e claudicação intensa (Bezerra et al., 2014). Em casos mais graves, pode ocorrer deterioração da articulação, com o rompimento de ligamentos e formações óssea na zona das articulações (Spickler et al., 2015, Harwood et al., 2017).

Diante disso, a claudicação é um dos comportamentos que podem afetar a falta de bem-estar animal, pois compromete uma marcha normal seguida de dor (Plumer et al., 2021). Os animais podem ser acometidos rapidamente por uma contratura do tendão, resultando em um diagnóstico ruim ao longo do tempo (Plummer et al., 2021). Sendo vista como um sinal comum de lesões nos membros, que prejudica principalmente seu bem-estar (Hamdi et al., 2021). Assim, se evidencia que esses animais que sofrem de problemas articulares e com prováveis manifestações de dor, tem o bem-estar diretamente prejudicado. Nesse estudo, foram observadas a relação da manifestação de dor e a contaminação pela CAE, sendo os animais positivos aos testes de IDGA e WB, os que apresentaram maior porcentagem de manifestações de dor ($p<0,05$), enquanto os animais positivos e negativos ao PCR*n* não tiveram diferença ($p\geq0,05$) na avaliação deste sintoma. Esse fato pode ser explicado, pois o teste PCR*n* identifica animais também na fase inicial de infecção, quando é comum os animais serem assintomáticos. Enquanto os animais com anticorpos circulantes provavelmente possuem mais tempo de infecção e o nível de anticorpos no organismo é maior (Azevedo et al., 2019).

Os sintomas menos evidentes em animais positivos, apenas no teste de PCR*n*, pode ser explicado pelo soro conversão tardia, que pode se estender ao longo de semanas, meses ou até anos (Preziuso et al., 2003). A ausência de soroconversão da CAE pode estar relacionada a patogenicidade, que envolve a redução da replicação e a latência viral na forma de DNA pró-viral integrado ao genoma celular dos monócitos ou nas células da medula óssea (Blacklaws et al., 2012). Por isso o vírus pode estar oculto

no organismo, ocorrendo uma infecção sem a ativação do sistema imunológico ou até mesmo de sintomas (Ravazzolo et al., 2006).

Segundo Roger (2008), as dores crônicas são, na maioria das vezes, responsáveis pelos problemas quanto ao bem-estar dos animais, sendo as circunstâncias que favorecem o aumento da doença, ser causada por um bem-estar adverso no rebanho. Górecka-Bruzda et al. (2019) demonstraram que, dentre doze cabras soropositivas para LVPR, uma cabra (8,3%) teve comportamento de dor. Em um sistema de criação, as dores e sofrimentos dos animais de fazenda devem ser avaliadas e reconhecidas, mas o reconhecimento e o controle da dor podem ser difíceis e problemáticos e devem levar em consideração as necessidades e o sistema em que vivem (Underwood, 2002).

A dor pode induzir na mudança de comportamento alimentar, se causa de estresse, e interferir no sistema imunológico e no desempenho dos animais (Prunier et al., 2013) e, consequentemente prejudicar o bem-estar dos animais.

Os animais que tiveram IAC alterado (tabela 6) apresentaram maior manifestação de dor, assim os dados deste estudo refletem que a dor pode estar relacionada com a artrite encefalite caprina, sendo o primeiro estudo que evidencia a CAE com a manifestação de dor diretamente, refletindo de forma negativa na vida desses indivíduos dentro do sistema de produção em qual vivem. Abreu et al. (2010), também observaram uma média maior do IAC de animais positivos os animais soronegativos para LVPR. Em outro estudo realizado por Paula et al. (2008), três reprodutores soropositivos apresentaram IAC igual ou superior a 7 durante o período de dois meses, no entanto, não foi vista nenhuma manifestação de dor ou até mesmo claudicação.

CONCLUSÃO

1. Animais sorologicamente positivos para a CAE apresentam maior possibilidade de comprometimento da BEA, em virtude das alterações articulares;

2. Animais infectados com o LVPR (PCR*n* positivo), sem o envolvimento do sistema imunológico (sorologia negativa), não apresentam comprometimento do BEA;

3. Animais com IAC aumentado apresentam mais dor nas articulações e, portanto, com o BEA comprometido;

4. Nos animais estudados não foi observada relação de doenças respiratórias com a positividade ao LVPR.

5. As condições sanitárias dos rebanhos clínicos relacionados a CAE influencia a qualidade de vida desses animais, que vivem em bem-estar precário ocasionado pela doença.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Caprinos e Ovinos, ao Conselho Nacional e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelo apoio estrutural e financeiro, Contribuição dos Autores: Todos os autores participaram do desenvolvimento e execução da pesquisa. E, todos revisaram o manuscrito, leram e aprovaram a versão final.

DECLARAÇÃO DE ÉTICA

O presente estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Caprinos e Ovinos, recebendo o número de protocolo 13/2015. Seguindo as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA, Lei 11.794 de oito de outubro de 2008) e demais resoluções normativas subsequentes.

CONFLITO DE INTERESSE

Declaramos não haver nenhum conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

Azevedo, D., Santos, V. S. Dos; Sousa, A., Peixoto, R., Pinheiro, R. R., Andrioli, A., Teixeira, M. F. Da., 2017. Small ruminant lentiviruses: economic and productive losses, consequences of the disease. Arquivos do InstitutoBiológico, 84, 1-10.

Battini, M., Vieira, A., Barbieri, S., Ajuda, I., Stilwell, G., Mattiello, S., 2014 Invited Review: Animal-based indicators for on-farm welfare assessment for dairy goats. Journal of dairy science, 97, 6625-6648.

Blacklaws, B.A., 2012. Small ruminant lentiviruses: Immunopathogenesis of visna maedi and caprine arthritis and encephalitis virus. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 35, 259– 269.

Caroprese, M., Casamassima, D., Pier Giacomo Rassu, S., Napolitano, F., Sevi, A.2009. Monitoring the on-farm welfare of sheep and goats. ItalianJournalof Animal Science, 8 ,343-354.

Cavalcante, F. R. A., Andrioli, A., Pinheiro, R. R., Souza, K. C. D., Veras, A. K. A., Lopes, T. A., Silva, P. A. F. D., 2013.Detecção do vírus da Artrite Encefalite Caprina por nested PCR e nested RT-PCR em ovócitos e fluido uterino. Arquivo do Instituto Biológico, 80, 381-386.

De Abreu, D. A., Andrioli, A., De Brito, R. L. L., Ávila, A., Pinheiro, R.,De Souza, K. C., 2010. Avaliação da massa corporal e do índice articular clínico em caprinos portadores do vírus da Artrite-Encefalite Caprina (CAEV). In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL. Mossoró: Sociedade Nordestina de Produção Animal; UFERSA.

De Azevedo, D. A. A., Pinheiro, R. R., Dos Santos, V. W. S., Damasceno, E. M., De Sousa, A. L. M., Araújo, J. F., Teixeira, M. D. S., 2019. Comparação de testes sorológicos e molecular para diagnóstico da Artrite Encefalite Caprina e avaliação clínica da glândula mamária de caprinos leiteiros infectados, Acta ScientiaeVeterinariae, 47.

De Brito, Roberta Lomonte Lemos., 2009. Implicações da artrite-encefalite caprina na reprodução, produção e na qualidade do leite de cabras. Embrapa Caprinos e Ovinos Tese/dissertação (ALICE).

Dantas T.V.M., Araújo S.A.C., Pinheiro R.R., Aragão M.A.C., Silva J.B.A., Ricarte A.R.F., Ribeiro A.L. Teixeira M.F.S., 2008. Desenvolvimento e padronização de um Elisa indireto para diagnóstico de maedivisna em ovinos. Ciencia.Animal, 9, 181-187.

De Oliveira Bezerra, A., Starling, R. Z. C., Senhorello, I. L. S., Ferreira, P. G., Clipes, R. C., Donatele, D. M., 2014. Artrite encefalite caprina. PUBVET, 2550-2674.

Górecka-Bruzda, A., Reczyńska, D., Jastrzębska, E., Barłowska, K., Bagnicka, E., 2019. Behavioral and physiological measures in dairy goats with and without small ruminant lentivirus infection. Journal of veterinary behavior, 31, 67-73.

Gregory, L., Lara, M.C.C.S.H., Villalobos, E.M.C., Hasegawa, M.Y., Castro, R.S., Rodrigues, J.N.M., Araújo, J., Keller, L.W. E Durigon, E.L., 2009. Detecção do vírus da Artrite-Encefalite Caprina em amostras de leite de cabras pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e nested-PCR. ArsVeterinária, 25,142-146.

Harwood, D., Mueller, K., 2017.Goat Medicine and Surgery, CRC, Press,176-180.

M'Hamdi, N., Darej, C., Attia, K., Guesmi, H., Znaïdi, I. E. A., Bouraoui, R., Ayadi, M., 2021. Assessment of Meat-Type Sheep Welfare Using Animal-Based Measures. Animals, 11, (7), 21-20.

Lara M.C.C.S.H., Birgel Junior E.H., Gregory L. E Birgel E.H., 2005. Aspectos clínicos da artrite encefalite dos caprinos. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 57, 736-740

Larruskain, Amaia; Jugo, Begoña M.,2013. Retroviral infections in sheep and goats: small ruminant lentiviruses and host interaction. Viruses, 5, 2043-2061.

Lima, W.C., 2010. Resistência anti-helmíntica na caprinocultura leiteira do arranjo familiar do cariri paraibano. Dissertação (Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural) -Universidade Federal de Campina Grande, Pa-tos – PB, 65.

Lopes, A. K. C., Araújo, J. F., Peixoto, R. M., de Sousa, A. L. M., Lima, A. M. C., Amaral, G. P., Andrioli, A. 2021. Evaluation of maternal-filial stress in a dairy goat herd with small ruminant lentivirus infection in the Brazilian northeastern semiarid region. Journal of Veterinary Behavior, v. 46, p. 54-61.

Martínez-Navalón, B., Peris, C., Gómez, E. A., Peris, B., Roche, M. L., Caballero, C., Goyena, E; Berriatua, E; Berriatua., 2013.Quantitative estimation of the impact of caprine arthritis encephalitis virus infection on milk production by dairy goats. The VeterinaryJournal, 197(2), 311-317.

Marinho, R. C., Martins, G. R., Souza, K. C., Sousa, A. L. M., Silva, S. T. C., Nobre, J. A., Teixeira, M. F.,2018. Duplex nested-PCR for detection of small ruminant lentiviruses. brazilian journal of microbiology, 49, 83-92.

Nascimento-Penido, P.M. P; O., Galinari, G.C.F. Heinemann, M, B., Leite, R.C.,2017. Ocorrência do virus do vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) em cabras leiteiras produzidas em sistema intensivo confinado no estado de Minas Gerais. Pesq. Vet. Bras. 37,577-581.

Nihi, M. M., Manfro, R. C., Martins, C., Suliman, M., Murayama, Y., Riella, M. C., Nascimento, M. M. D., 2010. Associação entre gordura corporal, inflamação e estresseoxidativo na hemodiálise. Brazilian Journal of Nephrology,32, 11-17.

Paula.N.R.O., Andrioli A., Cardoso. J.F.S; Sousa F.M.L, Souza K.C. De, R.R. Pinheiro, Alves F.S.F., Teixeira M.F.S.,2008. Parâmetros clínicos e hematológicos de reprodutores caprinos infectados naturalmente pelo vírus da artrite encefalite caprina durante a transição da estação seca para chuvosa no Ceará. Arquivos de Institutos Biologicos, 75,141-147.

Pinheiro R.R., Andrioli A., Gouveia A.M.G., Aragão M.A.C., Martinez P.M., 2010.Avaliação de antígenos para o diagnóstico de lentivírus em rebanho caprino sob programa decontrole. Arquivos do Instituto Biológico, 77,133-137.

Pinheiro, A. A., Brito, I. F., 2009. Bem-estar e produção animal. Sobral: EMBRAPA Caprinos e Ovinos, (EMBRAPA-CNPCO. Documentos, 97),27.

Pinheiro, R. R., Andrioli, A., Sider, L. H., Santiago, L. B., Oliveira, E. L. De; Sousa, A. L. M., Alves, F. S. F., Cruz, J. C. M. Da.,2012. Lentiviroses em pequenos ruminantes: principais métodos de diagnóstico. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, (Embrapa Caprinos e Ovinos. Documentos, 107), 42.

Pinheiro, R. R., Gouveia, A. M. G., Alves, F. S. F., Andrioli, A., 2005. Medidas carpometacarpianas como índice articular clínico em caprinos. Revista Brasileira de Medi-cina Veterinária, Rio de Janeiro, v. 27, n. 4, p. 170-173.

Plummer, P. J., Hempstead, M. N., Shearer, J. K., Lindquist, T. M., 2021.Evaluating the Welfare of Small Ruminants: Practical Management Advice. Veterinary Clinics: Food Animal Practice, 37, 33-54.

Preziuso S., Sanna E., Sanna M.P., Loddo C., Cerri D., Taccini E., Mariotti F., Braca G., Rossi G., Renzoni G.,2003. Association of maedivisna virus with Brucellaovis infection in rams. European Journal Histochemistry,47, 151-158.

Prunier, A., Mounier, L., Le Neindre, P., Leterrier, C., Mormède, P., Paulmier, V., Guatteo, R., 2013.Identifying and monitoring pain in farm animals: a review. Animal, 7, 998-1010.

Pugh, D.G., 2002. Sheep and goat medicine. Philadelphia: Saunders,1.

Pugh, David G,.Baird, N. Nickie. Sheep; Goat. 2012. Medicine-E-Book. Elsevier Health Sciences.

Ravazzolo A.P., Nenci C., Vogt H.R., Waldvogel A., Obexer-Ruff G., Peterhan E., Bertoni G., 2006.Viral load, organ distribution, histopathological lesions, and cytokine mRNA expression in goats infected with a molecular clone of the caprine arthritis encephalitis virus. Virology, 350,116-127.

Reilly, L.K,.Baird, A.N,.Pugh, D.G. Enfermidades Do Sistema Musculoesquelético. In: Pugh, D.G.,2004. Clínica de ovinos e caprinos, 251 – 286.

Ricci, G. D., Titto, C. G., Sousa, R. T., 2017. Enriquecimento ambiental e bem-estar na produção animal. Revista de Ciências Agroveterinárias, 16,324-331.

Rodrigues, A. S., Pinheiro, R. R., Brito, R. L. L., Andrioli, A., Oliveira, E. L., Sider, L. H., Teixeira, M. F. S., 2018. Avaliação de um controle estratégico da artrite encefalite caprina em rebanho caprino leiteiro. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 70, 139-146.

Roger, P. A. 2008. The impact of disease and disease prevention on sheep welfare. Small Ruminant Research, 76, (2), 104-111.

Rodrigues A.S., Brito R.L.L., Pinheiro R.R., Dias R.P., Alves S.M., Souza T.S., Souza K.C., Azevedo D.A.A., Andrioli A., Magalhães D.C.T; Teixeira M.F.S.,2014. Padronização do Elisa indireto e Western Blot para diagnóstico da artrite-encefalite caprina. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 66,417-424.

Ruffin, Debra C., 2001.Mycoplasma infections in smallruminants. Veterinary clinics of North America: food animal practice,17, 315-332.

Souza, T. S. D., Pinheiro, R. R., Lima, C. C. V. D., Brito, R. L. L. D., Azevedo, D. A. A. D., Dias, R. P., Costa, J. N.,2018. Infecção de ovinos pelo lentivírus caprino. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, 19, (3),268-276.

Spickler, Anna Rovid. 2015. Small Ruminant Lentiviruses: Maedi-Visna and CaprineArthritisandEncephalitis.Availablefrom<http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/ factsheets.php>Acesso: Agost. 10, 2021.

Tariba, B., Kostelić, A., Roić, B., Benić, M., Šalamon, D.,2017. Influence of Caprine Arthritis Encephalitis Virus infection on milk production of French Alpine goats in Croatia. Mljekarstvo/Dairy, 67.

Tigre, Dellane Martins; Campos, Gubio Soares; Sardi, Silvia Ines.,2006. Isolamento e identificação do vírus da Artrite encefalite caprina, a partir do co-cultivo de células mononucleares do sangue com células de membrana sinovial de cabra. Revista de Ciências Médicas e Biológicas, 5, 124-131.

Underwood, Wendy J., 2002. Painanddistress in agriculturalanimals. Journal of the American Veterinary Medical Association, 221, 208-211.

Vieira, A., Brandão, S., Monteiro, A., Ajuda, I., Stilwell, G., 2015.Development and validation of a visual body condition scoring system for dairy goats with picture-based training. Journalofdairyscience, 98(9), 6597-6608.

Veschi, J., Castro, R., Ramos, E., 2011. Zafalon.Artrite-Encefalite Caprina (CAE): principais sinais clínicos. Embrapa Semiárido-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).

Tabela 1. Pontuação de condição corporal em ovinos e caprinos

	Descoberta física			
Atribuído Pontuação do lombo	Processo espinhoso	Processo transversais	Olho de lombo Músculo	Cobertura de gordura Musculo do olho
Condição 1	Afinado e proeminente	Focado	Raso	Nenhum
Condição 2	Afinado e proeminente	Liso, ligeiramente arredondado	Profundidade média	Pequeno
Condição 3	Liso e arredondado	liso, bem coberto	Cheiro	Médio
Condição 4	Palpável como linha firme c\pressão	não palpável	Puxar	Espesso
Condição 5	Não palpável	não palpável	muito cheio	muito espesso

Pugh; Baird, et al., 2012.

Tabela 2. Número e porcentagem de animais positivos e negativos ao LVPR pelas técnicas de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), Western Blot (WB) e Reação em cadeia da polimerase *nested* (PCR*n*).

Animais	**Técnicas de Diagnóstico**					
	IDGA		**WB**		**PCRn**	
	n/N	%	n/N	%	n/N	%
Negativo	700/1189	58,87	577/1189	48,53	366/1189	30,53
Positivo	489/1189	41,13	612/1189	51,47	826/1189	69,47

N: Número total de animais

Tabela 3. Escore corporal de cabras leiteiras e resultado dos testes de diagnósticos para o LVPR, pelas técnicas de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), Western Blot (WB) e Reação em cadeia da polimerase *nested* (PCR*n*).

Escore	**IDGA**				**WB**				**PCRn**			
	Negativo		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo		Positivo	
	N	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**
Magro	257	59,4	176	40,6[a]	198	46,0	232	54,0[ab]	115	26,8	314	73,2[a]
Normal	367	61,1	234	38,9[b*]	315	52,2	289	47,8[a]	202	33,5	401	66,5[b]
Obeso	76	49,0	79	51,0[a]	64	41,3	91	58,7[b]	45	29,2	109	70,8[ab]

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indica que houve diferença estatística pelo teste de Qui-quadrado (P<0,05) ou *(P<0,01); N: Número de animais.

Tabela 4. Animais com alterações pulmonares e resultados dos testes de diagnósticos para o LVPR, pelas técnicas de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), Western Blot (WB) e Reação em cadeia da polimerase *nested* (PCR*n*).

Sintomas pulmonares	IDGA				WB				PCR			
	Negativo		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo		Positivo	
	N	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**
Sim	42	58,3	30	41,7[a]	31	43,1	41	56,9[a]	20	27,8	52	72,2[a]
Não	658	58,9	459	41,1[a]	546	48,9	571	51,1[a]	343	30,7	774	69,3[a]

Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença estatística pelo teste de Qui-quadrado (P>0,05). N: Número de animais

Tabela 5. Índice articular clínico (IAC) e resultado dos testes de diagnósticos para o LVPR, pelas técnicas de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), Western Blot (WB) e Reação em cadeia da polimerase *nested* (PCR*n*).

IAC	IDGA				WB				PCR			
	Negativo		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo		Positivo	
	N	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**
Alterado	65	45,5	78	54,5[a]	46	32,2	97	67,8[a]	40	28,0	103	72,0[a]
Suspeito	198	58,1	143	41,9[b]	164	48,1	177	51,9[b]	100	29,3	241	70,7[a]
Normal	437	62,4	263	37,6[b]**	367	52,1	338	47,9[b]*	223	31,6	482	68,4[a]

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indica que houve diferença estatística pelo teste de Qui-quadrado (P<0,05), *(P<0,01) ou **(P<0,001). N: Número de animais.

Tabela 6. Animais com manifestação de dor e resultado dos testes de diagnósticos para o LVPR, pelas técnicas de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), Western Blot (WB) e Reação em cadeia da polimerase *nested* (PCR*n*).

Manifestação de dor	IDGA				WB				PCR			
	Negativo		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo		Positivo	
	N	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**
Dor	32	44,4	40	54,6[a]	25	34,7	47	65,3[a]	17	23,6	55	76,4[a]
Sem dor	668	59,8	449	40,2[b]	552	49,4	565	50,6[b]	346	31	771	69,0[a]

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indica que houve diferença estatística pelo teste de Qui-quadrado (P<0,05). N: Número de animais.

Tabela 7. Animais com índice articular clinico com presença de dor.

Índice articular clinico	Presença de dor	
	N	**%**
Alterado	37	25,9[a]
Suspeito	27	7,9[b]
Normal	8	1,1[c]

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indica que houve diferença estatística pelo teste de Qui-quadrado (P<0,001). N: Número de animais com presença de dor e sem presença de dor

CONCLUSÕES GERAIS

- Os LVPR provocam graves problemas nos rebanhos brasileiros e no ambiente de produção. Os animais contaminados com LVPR tem mais predisposição para outros tipos de enfermidades, como a Linfadenite caseosa, provocando uma coinfecção e levando a sérios problemas de sanidade animal.

- A CAE compromete o bem-estar dos animais, resultando em sofrimento e dor decorrentes da doença, afetando a vida do animal dentro do sistema de produção em que se vive.

ANEXOS

Embrapa
Caprinos e Ovinos

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA / CNPC

CERTIFICADO DE CREDENCIAMENTO E AUTORIZAÇÃO PARA REALIZAÇÃO DE PROTOCOLO

Certificamos que o projeto intitulado "Estudo dos impactos produtivos e econômicos da CAE em rebanhos caprinos leiteiros", ***protocolo nº 013/2015***, sob a responsabilidade do Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Embrapa Caprinos e Ovinos (CEUA/CNPC), em reunião realizada em 18/08/2015.

Vigência do projeto	18/08/2015 a 31/12/2018
Espécie/linhagem	*Capra hircus*. Caprinos das raças Saanen, Anglo Nubiana e Parda Alpina
Número de animais	900
Peso/idade	20 a 80 kg de peso corporal / 0,5 a 8 anos de idade
Sexo	300 Machos e 600 Fêmeas
Origem	Rebanhos comerciais

Sobral, CE, 04 de novembro de 2015.

Dr. Diego Barcelos Galvani
Coordenador da CEUA-CNPC

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos e Ovinos
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Fazenda Três Lagoas, Estrada Sobral-Groaíras, Km 4,
CEP 62010-970 Sobral – CE
Telefone (88) 3112.7400 Fax (88) 3112.7455
www.embrapa.br/caprinos-e-ovinos