



Influência da carga viral na transmissão sexual do Vírus da Artrite-Encefalite Caprina¹

Kelma Costa de Souza², Apoliana de Sousa Rodrigues³, Raymundo Rizaldo Pinheiro⁴, Roberta Lomonte Lemos de Brito⁵,
Ronaldo Pereira Dias³, Ismênia França de Brito⁶, Diônes Oliveira Santos⁴, Alice Andrioli⁷

¹ Parte da dissertação da primeira autora. Financiada pelo Banco do Nordeste do Brasil, Embrapa Caprinos e Ovinos, Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP, Governo de Estado do Ceará.

² Mestranda do Curso de Zootecnia (Universidade Estadual Vale do Acaraú / Embrapa Caprinos e Ovinos). Bolsista FUNCAP, e-mail: kelma_zoo@hotmail.com.

³ Bióloga (o), Bolsista Apoio Técnico em Extensão no País – CNPq, e-mail: pollyrodrigues@hotmail.com.br; ronaldodias01@yahoo.com.br

⁴ Pesquisador Dr. Embrapa Caprinos e Ovinos, e-mail: rizaldo@cnpq.embrapa.br; diones@cnpq.embrapa.br

⁵ Msc. Bolsista Desenvolvimento Tecnológico Industrial – CNPq, e-mail: rllbrito@veterinaria.med.br

⁶ Graduanda em Zootecnia da UVA. Bolsista CNPq, e-mail: ismenia_franca@yahoo.com.br

⁷ Orientadora, Dra. Pesquisadora Embrapa Caprinos e Ovinos, e-mail: alice@cnpq.embrapa.br

Resumo: A Artrite-Encefalite Caprina é uma importante infecção em caprinos e é causada por um vírus do gênero *Lentivirus*. Entre as formas de transmissão do vírus, a via sexual tem sido cogitada. Com o objetivo de avaliar existência de transmissão via inseminação artificial (IA) e a influência da carga viral infectante, utilizaram-se trinta cabras Sem Raça Definida e sêmen de um reprodutor caprino. Os animais eram sorologicamente livres da enfermidade. O sêmen foi inoculado com títulos infectantes de alta e de baixa carga viral. As fêmeas foram divididas em três grupos: 10 delas foram inseminadas com alta carga viral, 10 com baixa carga viral e 10 com sêmen sem o vírus, como controle negativo. Após as inseminações, foram acompanhadas com teste de diagnóstico *Western Blot*, sendo que 30 dias pós inseminação doze reagiram positivamente, sendo 10 desses animais do grupo com alta carga viral e duas do grupo com baixa carga viral. Após 120 dias das IAs todas as cabras já haviam soroconvertido e as do grupo controle nenhuma positivou no teste. Os resultados demonstram que aos 30 dias pós IA quanto maior a carga viral mais rápida é a soroconversão. Entretanto, a carga viral não influenciou na transmissão do vírus.

Palavras-chave: CAEV, inseminação artificial, *Western Blot*

Influence of the viral load in the sexual transmission of the Caprine Arthritis-Encephalitis Virus¹

Abstract: The Caprine Arthritis-Encephalitis is an important infection in goat and caused by a *Lentivirus*. Between the transmission forms of the virus, the sexual transmission has been cogitated. With the aim of evaluate the sexual transmission by the artificial insemination (AI) and the influence infecting of the viral load, were utilized thirty goats Without Definite Breeding and semen of the buck. Animals were serological free of the disease. The semen was inoculated with infecting headings of high or low viral load. The females were separated in three groups: 10 of them had been inseminated with high viral load, 10 with low viral load and 10 females with semen without the virus as negative control. After the inseminations, the females had been tested by *Western Blot*, 30 days after twelve had positively reacted, 10 of them belonged to the high viral load group and two of them to the low viral load group. After 120 days of AIs all goats had seroconverted and the control group no positive test. The results demonstrate 30 days after AI, to the bigger is the viral load the faster is the seroconversion. However that the viral load none didn't influence in the transmission.

Keywords: artificial insemination, CAEV, *Western Blot*

Introdução

A Artrite-Encefalite Caprina (CAE) é uma importante infecção em caprinos e acarreta em grande parte perdas econômicas da caprinocultura nacional, sejam elas diretas ou indiretas (Pinheiro, 2001a). É causada por um vírus do gênero *Lentivirus* e a este mesmo gênero pertencem outros vírus de importância em patologia veterinária e humana, como o vírus da Anemia Infecciosa Equina (AIEV), o Maedi-Visna (MVV) dos ovinos, os que ativam o sistema imune e o vírus da Imunodeficiência Felina (FIV), Bovina (BIV), Símia (SIV) e Humana (HIV) (Patrick et al., 2002). A principal via de transmissão da CAE é a digestiva, seguido pelo contato direto e prolongado com animais infectados. Entretanto, outras formas de transmissão têm sido cogitadas, como a materno-fetal e através do sêmen (Pinheiro, 2001b). Em humanos, a transmissão dos lentivírus pelo sêmen depende do estágio da doença e do estado imunológico ou nutricional do paciente (Alexander, 1990), assim como, fatores virológicos, biológicos e comportamentais, como a carga viral, inflamação da mucosa e tipo de relação sexual. Em caprinos, pouco se conhece sobre esses fatores (Andrioli et al., 2003). Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar existência de transmissão via inseminação artificial e a influência da carga infectante do vírus da Artrite-Encefalite Caprina.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Caprinos e Ovinos, situada em Sobral, CE. Foram utilizados um reprodutor

caprino da raça Anglo-Nubiana soronegativo para o CAEV e 30 cabras Sem Raça Definida (SRD), também soronegativas. Antes e durante o experimento os animais foram submetidos a coletas de sangue por punção da veia jugular em tubos vacutainer® de 10mL sem anticoagulante. As amostras foram centrifugadas a 1500xg por 15 minutos, para a separação do soro. Estes foram armazenados em tubos tipo eppendorf em duplicata e estocados em freezer a -20°C e posteriormente testados pelo *Western Blot* (WB), conforme protocolo relatado por Pinheiro (2001), para detecção de anticorpos Anti-CAEV. As fêmeas foram divididas em três grupos homogêneos com 10 animais em cada, sendo denominados de ACV, BCV e CN, o que respectivamente correspondia ao: grupo que receberia alta carga viral; o que receberia baixa carga viral e o controle negativo, que não receberiam nenhuma carga viral. As cabras foram submetidas à sincronização hormonal do estro, com um intervalo de uma semana entre os grupos. A cada semana um grupo foi submetido à inseminação artificial (IA) em tempo fixo às 32h e 48h após a suspensão da fonte de progesterona. Quanto ao reprodutor, o sêmen foi coletado por vagina artificial, avaliado por espermograma e separado em três partes iguais denominadas de A, B e C, sendo que a cada parte foi adicionado Meio Essencial Mínimo (MEM) com 2% de soro fetal bovino (SFB). O sêmen A foi inoculado com a cepa CAEV-Cork (oriunda do Laboratoire Associé de Recherches sur les Petits Ruminants – INRA – ENVL – France) com o título de 10^6 TCID₅₀/mL e utilizado no grupo de fêmeas ACV, o sêmen B foi inoculado com a mesma cepa, porém com título de 10^2 TCID₅₀/mL e utilizado no grupo BCV e o sêmen C não recebeu inoculação viral e foi utilizado no grupo CN. Após as inoculações do vírus o sêmen A, B e C foram envasados em palhetas de 0,50mL para IA a fresco. As cabras foram testadas sorologicamente por WB desde IAs até 240 dias após estas.

Resultados e Discussão

Em doze cabras foram detectados anticorpos Anti-CAEV, pelo teste *Western Blot*, trinta dias após as IAs, sendo que dez cabras pertenciam ao grupo com ACV e duas ao grupo BCV. Após 120 dias de inseminação, todas as cabras dos grupos ACV e BCV apresentavam reação de anticorpos ao antígeno CAEV no teste, indicando que com quatro semanas após inoculação, as fêmeas que receberam a maior dose infectante, tornaram-se soropositivas mais precocemente, permanecendo este quadro até os 240 dias após as IAs. Em nenhum momento as fêmeas do CN obtiveram resultado positivo no WB (Tabela 1).

Tabela 1. Número e porcentagem de cabras soropositivas pelo teste *Western Blot* a partir dos 30 dias após a inseminação artificial com sêmen livre e inoculado com cargas virais diferentes.

Grupo	Número e porcentagem de animais soropositivos após desafio					
	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	180 dias	240 dias
ACV	10 (100%)	9 (90%)	9 (90%)	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)
BCV	2 (20%)	9 (90%)	9 (90%)	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)
ACV+BCV	12 (60%)	18 (90%)	18 (90%)	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)
CN	0	0	0	0	0	0

ACV = grupo com alta carga viral, inseminado com sêmen inoculado com CAEV-Cork título 10^6 TCID₅₀/mL.

BCV = grupo com baixa carga viral, inseminado com sêmen inoculado com CAEV-Cork título 10^2 TCID₅₀/mL.

CN = grupo controle negativo, inseminado com sêmen não inoculado com CAEV-Cork.

Os resultados demonstram que a carga viral não influenciou na transmissão sexual do CAEV, visto que todas as cabras, independentemente do grupo soroconverteram. Porém, a soroconversão foi detectada mais precocemente no grupo de fêmeas inseminadas com sêmen inoculado com CAEV-Cork título 10^6 TCID₅₀/mL.

Embora o risco da transmissão sexual do lentivirus caprino tenha sido relatado tanto na monta natural, quanto pela inseminação artificial (Andrioli et al., 2006), estudos sobre o potencial de influencia da carga viral nesse tipo de transmissão ainda são incipientes.

Conclusões

Com este estudo, foi possível concluir que a transmissão sexual do CAEV não sofreu influência da carga viral.

O *Western Blot* detectou mais precocemente a soroconversão das fêmeas que foram inseminadas com sêmen que tinha a carga viral maior.

Agradecimentos

À Embrapa Caprinos e Ovinos e a Universidade Estadual Vale do Acaraú, por terem fornecido as condições necessárias para realização do estudo, além do auxílio financeiro. Ao Banco do Nordeste do Brasil, Governo do Estado do Ceará, a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo auxílio financeiro.

Literatura Citada

- ALEXANDER, N. J. Sexual transmission of human immunodeficiency virus: virus entry into the male and female genital tract. **Fertility and Sterility**, v.54, p.1-18, 1990.
- ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G.; PINHEIRO, R.R. **Seleção de sêmen de reprodutores portadores do vírus da artrite encefalite caprina através da técnica de reação em cadeia da polimerase**. Sobral, Comunicado técnico. EMBRAPA-CNPC, n.50, 23 p. 2003.
- ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A. M. G.; MARTINS, A. S.; PINHEIRO, R. R.; SANTOS, D. O. Fatores de risco na transmissão do lentivírus caprino pelo sêmen. **Pesq. agropec. bras**, v.41, n.8, p.1313-1319, 2006.
- PATRICK, M.K.; JOHNSTON, J.B.; POWER, C. Lentiviral Neuroinvasion: Comparative Neuroinvasion, Neurotropism, Neurovirulence, and Host Neurosusceptibility. **Journal of Virology**, v.76, p.7923-7931, 2002.

- 5 PINHEIRO, A. A. **Vírus da Artrite Encefalite Caprina:** PCR e isolamento em amostras de sêmen, fluido uterino e embriões. 2001. 68 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001. Escola de Veterinária – UFMG, 2001b.
- 6 PINHEIRO, R. R. **Vírus da Artrite Encefalite Caprina:** Desenvolvimento e padronização de ensaios imunoenzimáticos (ELISA e Dot-Blot) e estudo epidemiológico no Estado do Ceará. 2001. 115 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001. Escola de Veterinária – UFMG, 2001a.