

VII Encontro de Iniciação Científico da Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA

PRODUÇÃO DE ANTÍGENO DO VÍRUS MAEDI VISNA (MVV) PARA IMUNODIFUSÃO EM GEL DE AGAROSE

Aryana Lushese V. Lima Feitosa (IC - EMBRAPA, Biologia- UVA), Andréa Alice da Fonseca Oliveira (Pesquisadora - Embrapa Caprinos), Francisco Selmo F. Alves (Pesquisador - Embrapa Caprinos) Alice Andrioli (Pesquisadora - Embrapa Caprinos), Priscila Martinez Martinez (AT - Embrapa Caprinos), Maria Alzira do Carmo Aragão (IC - EMBRAPA, Biologia- UVA).

Raymundo Rízaldo Pinheiro (Orientador e Pesquisador da Embrapa Caprinos).

Palavras-chave: Ovinos, Lentivírus, Maedi-Visna, Antígeno, IDGA.

Agradecimentos a Embrapa, Banco do Nordeste e a FUNCAP pelo apoio financeiro para realização deste projeto.

Introdução

Maedi-Visna (MV) é uma enfermidade que provoca nos ovinos adultos uma infecção multisistêmica, muitas vezes assintomática de evolução crônica, que leva o animal a um quadro de debilitação progressiva com conseqüente queda da produtividade, podendo levar à morte do mesmo, sendo responsável por sérias perdas econômicas. O agente etiológico Maedi-Visna (MVV) é um lentivírus pertencente à família Retroviridae. As principais manifestações da inflamação, induzida pelo MVV, são: perda progressiva de peso, pneumonia intersticial, encefalite, mamite, artrite e linfadenopatia. Por essas características da doença e por não existirem sinais clínicos patognomônicos torna-se necessário o auxílio de testes laboratoriais que permitam seu diagnóstico.

O teste laboratorial para diagnóstico de infecção pelo MVV mais difundido é o de imunodifusão em ágar gel (IDAG), que tem grande aceitação na execução de testes de rotina em rebanhos, devido ao custo relativamente baixo, à boa sensibilidade e especificidade, além da praticidade de execução e leitura. Atualmente o antígeno do IDGA é importado e de custo elevado, portanto o presente trabalho teve como objetivo produzir um antígeno nacional e descrever a técnica utilizada para a produção deste.

Material e Métodos

Cultivos secundários de células de Membrana Sinovial Ovina (MSO) obtida por "explant" a partir de cordeiro comprovadamente negativo para Lentivírus Ovídeo (LVO), seguido de subcultivos por tripsinização das células para produção viral com amostra do vírus MVV com título de $10^{3,8}$ TCID₅₀/mL multiplicada em MSO. As monocamadas semiconfluentes de MSO cultivadas numa garrafa A150 de 150 cm² de superfície de cultivo, foram inoculadas 72 a 96 horas após passagem, com a monocamada contendo de 90 a 95% de confluência, com 5mL de solução viral e com 200 DFS diluídas em MEM sem SFB. O sobrenadante produzido foi clarificado por centrifugação (3200g num rotor GSA - Sorvall®). A concentração foi realizada através de ultrafiltro Amicon® com membrana de 10000 daltons à 4°C. A sorologia para infecção pelo Maedi-Visna foi realizada pelo método de IDGA a 0,9% em tampão borato, utilizando 30µL de soro/antígeno, com a leitura realizada após 48-72 horas, com luz indireta sobre fundo escuro, sendo considerada definitiva a última leitura. A detecção consiste em linhas de precipitação nos casos positivos, decorrentes da reação antígeno-anticorpo.

Resultados e Discussão

Os vírus multiplicaram-se satisfatoriamente, sendo observada formação de sincícios 72 horas após a infecção. Realizou-se três coletas de sobrenadante viral, com intervalos de sete dias, totalizando 300mL. Este material foi concentrado 60 vezes onde obteve-se, aproximadamente 5,0 ml de antígeno. O antígeno produzido foi testado e titulado pelo IDGA onde verificou-se uma linha de precipitação com identidade contra o soro padrão positivo indicando uma reação antígeno-anticorpo. Na titulação verificou-se linha de identidade até uma diluição de 1:2.

Conclusão

A inoculação de 200 DFS foi suficiente para produzir antígeno de MVV para o teste de IDGA.