



## PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE WESTERN BLOT PARA A DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA CAE NO PLASMA SEMINAL DE MACHOS CAPRINOS

DARLY ARAUJO DE ABREU(1) - Roberta Lomonte Lemos de Brito(2) - Apoliana de Sousa Rodrigues(3) - Vanderlan Warlington Souza dos Santos(4) - Raymundo Rizaldo Pinheiro(5) - Alice Andrioli(6) -

1. Graduada em Zootecnia pela Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA - 2. Mestre em Zootecnia da Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA - 3. Mestranda em Zootecnia pela Universidade Estadual do Ceará - UECE - 4. Graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual Vale do Acaraú - 5. Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos - Professor do Curso de Graduação da Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA - 6. Médica Veterinária - Pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos -

### PALAVRAS-CHAVE

CAE, plasma seminal, western blotting

### APOIO

EMBRAPA, FUNCAP

### INTRODUÇÃO

O vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) causa infecções crônicas, degenerativas e persistentes (Pinheiro et al., 2001) e possui tropismo por células do sistema imunológico (monócitos e macrófagos).

O CAEV está presente no sêmen de animais portadores do vírus, mesmo sem sintomatologia, (Paula, 2008) e pode ser transmitido através da inseminação artificial com sêmen contaminado (Souza et al., 2010). Desta forma, o controle desta doença envolve a padronização de testes de diagnóstico para seleção de reprodutores e/ou de sêmen livres do CAEV.

O teste de Western Blot (WB) possui alta especificidade e sensibilidade para detecção de anticorpos contra o CAEV em amostras de sangue, enquanto que a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) já foi padronizada no sangue e no sêmen.

A segurança do sêmen comercializado depende, dentre outros, de um controle de qualidade eficiente, o qual necessita de métodos de diagnóstico capazes de certificar este produto como livre de patógenos.

### OBJETIVOS

Padronizar uma técnica de Western Blot para detecção de anticorpos contra o CAEV em amostras de plasma seminal de caprinos.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento ocorreu na Embrapa Caprinos e Ovinos, situada em Sobral-CE. Foram utilizados oito animais (quatro soropositivos para CAE e quatro livres do vírus), sendo realizadas duas coletas de sêmen de cada animal com o auxílio da vagina artificial. O plasma seminal foi obtido através da centrifugação a 10000g durante 30 minutos à 4°C. O teste do WB seguiu o protocolo descrito por Pinheiro et al (2006). A eletroforese foi feita em gel SDS-PAGE a 12,5%, após a separação das bandas de proteínas, estas foram transferidas para membrana de nitrocelulose que foi bloqueada com PBS Tween (PBS-T) a 0,3%, por 60 minutos, em seguida lavada por 5 minutos com PBS-T a 0,05% e repetiu-se o procedimento por mais duas vezes. O plasma seminal foi diluído à 1:12,5, 1:25, 1:50 para verificar em qual diluição a proteína do vírus da CAE era mais visível. O tempo de incubação foi de 60 minutos. Na revelação foi utilizado diaminobenzidine (DAB), 4-cloronaftol e peróxido de hidrogênio.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de Western Blot revelou a existência de anticorpos anti-CAEV no plasma seminal, em sete amostras de sêmen das oito coletadas dos machos soropositivos e em nenhuma dos reprodutores sadios.

Dentre as diluições realizadas a que melhor evidenciou a banda protéica do vírus da CAE foram as diluições 1:12,5 e 1:25,0, sendo que a diluição 1:50,0 não revelou ou revelou uma banda de proteína muito sutil.

### CONCLUSÕES

É possível identificar os anticorpos contra o vírus da CAE pelo teste de Western Blotting no plasma seminal de machos infectados, sendo este teste de grande valia para a certificação sanitária dos reprodutores.

### REFERÊNCIAS

- PAULA, N. R. O. Parâmetros clínicos, hematológicos, sorológicos e reprodutivos em reprodutores natural e experimentalmente infectados com CAEV. 2008. 193p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2008.
- PINHEIRO, R. R.; OLORTEGUI, C. D. C.; GOUVEIA, A. M. G.; ARAÚJO, S. C.; ANDRIOLI, A. Desenvolvimento de dotblot para detecção de anticorpos para o vírus da Artrite Encefalite Carina em Caprinos. Rev. Port. de Ciên. Veterinárias, 101: 557-58, 2006.
- PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F. Prevalência da infecção pelo Vírus da Artrite-Encefalite Caprina no Estado do Ceará, Brasil. Ciên. Rural, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 449-454, 2001.
- SOUZA, K. C. de. Artrite-encefalite caprina: infecção experimental via inseminação artificial e acompanhamento clínico e sorológico. 2010. 99 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, 2010.