

OLIVEIRA, M.M.M. et al. Soroconversão de cabritos submetidos a um programa de controle para Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR). **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 28, Ed. 133, Art. 903, 2010.



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Soroconversão de cabritos submetidos a um programa de controle para Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR)¹

Michele M. M. Oliveira², Maria Dalva B. de Alcântara³, Aderaldo A. Farias⁴,
Sheila M. Gomes⁵, Ana Claudia Campos⁵, Roberto S. de Castro⁶

¹ Parte da Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da UFRPE

² Professora DSc. Centro de Ensinos Superiores de Imperatriz da Universidade Estadual do Maranhão (CESI/UEMA). Av. Godofredo Viana n. 1300, Centro, Imperatriz – MA. e-mail: michelemoreira2005@gmail.com.br

³ Pesquisadora I da EMEPA Estação Experimental de Pendência/PB

⁴ Auxiliar técnico à pesquisa da EMEPA Estação Experimental de Pendência/PB

⁵ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária (PPGCV/UFRPE)

⁶ Professor Associado da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, CEP 52.171-900, Recife-PE., Fone: (81) 3320-6428, rscastro@dmv.ufrpe.br

Resumo

A transmissão dos lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR) pode ocorrer, diretamente, pela ingestão de colostro e leite contaminados ou através do contato íntimo entre os animais, indiretamente pelo contato com fômites contaminados. Dentre as principais medidas de manejo empregadas no

OLIVEIRA, M.M.M. et al. Soroconversão de cabritos submetidos a um programa de controle para Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR). **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 28, Ed. 133, Art. 903, 2010.

controle desta enfermidade estão a separação dos cabritos das mães imediatamente após o nascimento, e alimentação com colostro artificial ou colostro de cabra tratado termicamente. Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar se essas medidas de manejo foram eficientes para evitar a transmissão de LVPR de cabras soropositivas às suas crias, obtidas por parto induzido e acompanhado. Para este fim, foram utilizados 44 caprinos, das raças Anglo Nubiana e Parda Alpina. Os soros foram testados pela imunodifusão em gel de agar (IDGA) e pelo *western blot* (WB) utilizando antígeno CAEV. Durante o acompanhamento dos animais, por um período de até 14 ou 18 meses, não se observou alterações clínicas compatíveis com infecção por LVPR, porém os resultados da IDGA e/ou do WB revelaram que 12 animais (27,27%), apresentavam anticorpos contra LVPR. Com base nestes resultados conclui-se que as medidas de manejo empregadas não foram suficientes para evitar a infecção pelos LVPR.

Palavras-chave: lentivirose, CAEV, *western blot*, IDGA, controle, manejo.

Seroconversion of kids from a small ruminant lentivirus (SRLV) control programme

Abstract

The infection by small ruminant lentivirus (SRLV) may occur directly through the ingestion of contaminated milk and colostrum, and, also, through intimate contact between the animals or indirectly through the contact with contaminated particles. The segregation of kids from their dams immediately after birth, and their feeding with artificial colostrum or thermically treated goat are some of the most used management practices to control of SRLV infection. This work was developed aiming to evaluate such measures were efficient in preventing the transmission of SRLV from seropositive goats to their offspring. In order to achieve that, 44 Anglo Nubian and Alpine kids were obtained for induced and followed birth. The serums were tested through agar gel immunodiffusion assay (AGID) and through *western blot* (WB) using the CAEV antigen. During the 14 to 18 months observation period of these animals

no SRLV clinical signs were observed, however 12 (27.27%) animals showed positive results in one or both tests. Based on these results, we draw the conclusion that the management practices used in this work were not sufficient to prevent the infection by SRLV.

Keywords: lentiviruses, CAEV, western blot, AGID, control, handling.

INTRODUÇÃO

Os vírus da artrite-encefalite caprina (CAEV) e Maedi-Visna (MVV) são genericamente denominados lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR), pois acometem caprinos e ovinos, que servem como reservatório e fonte de infecção. Os LVPR causam infecção caracterizada por curso lento e progressivo, onde a maioria dos animais infectados não apresenta sintomatologia clínica, sendo a sorologia a forma mais adequada de diagnóstico (Callado et al., 2001).

A principal forma de transmissão dos LVPR é a vertical, que ocorre através da ingestão do colostro e leite contaminados, favorecida pela permeabilidade intestinal dos animais recém-nascidos (Adams et al., 1983; Houwers & Van Der Molen, 1987). A infecção intrauterina pode ocorrer em, aproximadamente, 10% dos animais nascidos de fêmeas infectadas (Brodie et al., 1994). Esta hipótese vem sendo reforçada por Fieni et al. (2003), que sugerem que a presença de células infectadas por CAEV no trato genital das fêmeas (útero e oviducto) pode ser uma fonte potencial na transmissão vertical para embriões e fetos. A transmissão dos LVPR pode ocorrer, ainda, pelo contato íntimo e prolongado entre os animais, principalmente em confinamento com alta densidade populacional, bem como pelo uso de fômites contaminados, como agulhas, tatuadores, etc (Álvarez et al., 2005). Embora DNA pró-viral de lentivírus caprino e partículas virais livres infecciosas tenham sido detectadas no sêmen de machos naturalmente infectados com CAEV (Andrioli et al., 1999), a transmissão venérea ainda não foi confirmada.

No Brasil, os LVPR ocorrem em altas prevalências em rebanhos caprinos leiteiros especializados criados intensivamente. Nos rebanhos sem raça

OLIVEIRA, M.M.M. et al. Soroconversão de cabritos submetidos a um programa de controle para Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR). **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 28, Ed. 133, Art. 903, 2010.

definida (SRD), criados extensivamente ou semi-intensivamente, a prevalência é baixa ou nula. Na Região Nordeste a ocorrência das lentiviroses têm sido registradas, em vários Estados: Pernambuco, Bahia, Paraíba, Rio Grande do Norte, Maranhão e Ceará (Castro & Melo et al., 2001).

Como não existe tratamento e nem vacina, o controle das lentiviroses é realizado pela adoção de medidas de manejo que diminuam o risco de transmissão do vírus: separação das crias após o nascimento, evitando o contato com secreções e isolamento dos adultos; administração de colostro tratado termicamente (56°C por uma hora), de mães não infectadas ou de vaca; alimentação das crias com substituto do leite; teste dos animais a intervalos regulares e separação ou eliminação dos positivos; adoção da linha de ordenha; controle reprodutivo, principalmente ao se utilizar reprodutores positivos; e uso de material estéril, para evitar a transmissão através do sangue contaminado (Castro & Melo, 2001).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) criou o Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos (PNSCO) (Brasil, 2004a) que contempla um Plano Nacional de Vigilância e Controle de Lentiviroses de Pequenos Ruminantes (PNVCLVPR) (Brasil, 2004b). Este Plano foi elaborado com os objetivos de controlar ou erradicar a doença, certificar criações livres, promover a educação sanitária e agregar valor aos produtos da ovinocaprinocultura. As estratégias de ação são baseadas na adoção de procedimentos compulsórios de Defesa Sanitária Animal, complementados por medidas de adesão voluntária, com ação de vigilância do serviço oficial, controle de trânsito, credenciamento de laboratórios e certificação das criações livres. As medidas propostas buscam salvaguardar o status sanitário dos rebanhos sob controle e evitar (ou minimizar) a disseminação das LVPR. As medidas obrigatórias visam estabelecer um equilíbrio dos interesses individuais nas relações entre os produtores, enquanto que as voluntárias, oficialmente reconhecidas e certificadas pelo Serviço Veterinário Oficial, visam premiar o esforço do produtor em controlar ou erradicar as doenças, agregando assim valor a seus produtos (Castro, 2006). Dentre as medidas de adesão voluntária

está à adoção de práticas de biossegurança para o saneamento dos rebanhos para fins de certificação, baseadas em certas práticas de manejo para evitar a transmissão dos LVPR (Brasil, 2004b).

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar se as medidas de manejo (nascimento por parto acompanhado, separação das crias imediatamente após o nascimento, e a administração de colostro artificial e colostro pasteurizado) foram suficientes para evitar a transmissão de LVPR de cabras soropositivas aos seus descendentes.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em uma criação experimental de caprinos localizada na Mesorregião do Agreste Paraibano, na microrregião do Curimataú Ocidental, onde o clima é semi-árido quente, com precipitações médias anuais baixas e uma estação seca que pode atingir 11 meses. A média de temperatura máxima anual é de 24,5° C e a mínima de 16,5° C. A umidade relativa do ar é em torno de 50%. A precipitação pluvial é, em média, de 400 mm/anuais. A vegetação predominante é a caatinga hipoxerófila, apresentando-se normalmente densa com porte arbóreo e com menos freqüência arbóreo-arbustiva, sendo a utilização agrícola da região bastante intensa.

Utilizou-se 44 caprinos das raças Anglo Nubiana e Parda Alpina, nascidos de mães soropositivas, de parto induzido e acompanhado. As crias foram separadas das mães imediatamente após o nascimento, receberam colostro artificial composto por leite de cabra tratado termicamente (a 56°C por uma hora), gema de ovo, açúcar e carbonato de cálcio, e colostro tratado termicamente das próprias mães. Do terceiro ao 70º dia de vida foram alimentados com leite de cabra tratado termicamente. Na segunda semana de vida receberam, também, feno de maniçoba (*Manihot glaziovii*) e concentrado a base de farelo de trigo (*Triticum* spp.), milho (*Zea mays*) e soja (*Glycine max*). A partir de 90 dias de idade permaneceram confinados recebendo

concentrado (farelo de trigo, milho, soja), sal mineral para caprinos, cloreto de amônio, uréia, feno de *tifton*, palma (*Opuntia ficus indica*) e silagem de milho e sorgo (*Sorghum bicolor*). Em todo período de acompanhamento os animais foram observados clinicamente para verificação de possíveis sinais clínicos sugestivos da infecção por LVPR, tais como: artrite, distúrbios nervosos ou respiratórios (Pugh, 2005).

Aos 14 e 18 meses de idade os animais foram submetidos à sorologia para verificar o *status* sanitário quanto à possível infecção por CAEV, através da IDAG, teste preconizado pelo PNVCLVPR para diagnóstico de rotina de LVPR, e do WB que deve ser realizado em casos duvidosos ou para certificação das criações (Brasil, 2004b). Para isto, foi coletado sangue por venopunção jugular utilizando tubo tipo *vacutainer* sem anticoagulante. A IDGA foi realizada utilizando o *kit* comercial¹ seguindo as recomendações do fabricante, e o WB utilizando antígeno CAEV segundo protocolo descrito por Oliveira et al. (2007). Os animais foram classificados como positivos quando reagiram a pelo menos um dos testes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o acompanhamento dos animais não foram observadas alterações clínicas compatíveis com a infecção por LVPR. Na IDGA realizada após o nascimento nenhum dos animais demonstrou anticorpos anti-LVPR, entretanto aos 14 e 18 meses, a IDGA e o WB realizados, revelaram que 27,27% (12/44) dos animais apresentavam anticorpos contra LVPR, contrariando o que se esperava (taxa de infecção baixa ou nula) com a adoção das medidas de manejo descritas:. Diante desses resultados é essencial uma reflexão sobre as medidas tradicionalmente preconizadas para o controle dos LVPR, em consonância com o conhecimento sobre as formas de transmissão e vias de infecção, bem como seu papel relativo. Resultados de outros trabalhos

¹ Antígeno CAEV – IDGA; Biovetech®, Brasil

OLIVEIRA, M.M.M. et al. Soroconversão de cabritos submetidos a um programa de controle para Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR). **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 28, Ed. 133, Art. 903, 2010.

similares corroboram esta necessidade. Em um estudo realizado com crias separadas das mães, imediatamente após o nascimento, e que receberam colostro de fêmeas soronegativas pasteurizado e leite de cabra pasteurizado, foi observado nos resultados da IDGA associados aos da PCR, taxa de positividade de 23%, após doze meses do nascimento (Modolo et al., 2007). Estudo prospectivo com marrãs leiteiras até, aproximadamente, 18 meses de idade, que foram separadas das mães após nascimento e alimentadas com colostro pasteurizado, revelou que 28,8% apresentavam anticorpos anti-LVPR, através do teste de ELISA (Castro et al., 2002). Em animais recém-nascidos de cabras soropositivas, foi observada uma taxa de soroconversão em 5% dos animais com idade de 8 semanas, provavelmente estes animais foram infectados antes ou durante o parto (East et al., 1993). Além disso, em animais segregados das mães e alimentados com colostro de cabra pasteurizado e leite em pó de vaca, Mackenzie et al. (1987) observaram soroconversão em 10% dos animais. Isto pode ser explicado pelo contato direto que os animais mantinham com animais infectados, através de uma cerca.

Os animais soropositivos neste estudo poderiam ter sido infectados verticalmente por via intrauterina, conforme descrito por Brodie et al. (1994) e/ou por via digestiva através da ingestão do colostro ou leite contaminado devido a falhas no processo de tratamento térmico dos mesmos, pois é bem conhecido que uma das principais formas de transmissão dos LVPR ocorre por via oral, pela ingestão de leite e colostro contaminados (Ellis et al., 1986; Álvarez et al., 2005), devido à maior permeabilidade intestinal (Houwers & Van Der Molen, 1987). Depois de infectados esses animais poderiam ter passado a servir como fonte de infecção para os demais, que contrairiam a infecção por contato direto, à exemplo do que foi observado por East et al. (1993), que registraram um acréscimo de 10% na taxa de soroconversão em animais soronegativos postos em contato íntimo com animais infectados.

Considerando as condições edafo-climáticas e a disponibilidade de área na região onde foi realizado o estudo, como também na maioria dos Estados

brasileiros, não seria recomendável intensificar precocemente a criação dos animais de reposição, que deveriam ser submetidos à, pelo menos, um teste sorológico antes de entrar em reprodução, seguido de outros em períodos críticos, como metade e final da primeira lactação, conforme preconizado por Castro et al. (2002). Alternativamente, nos programas de controle, que se baseiam na separação ou sacrifício de animais soropositivos, seria indicada a utilização da IDGA em associação à reação em cadeia de polimerase (PCR), sendo a PCR um teste complementar, que deve ser realizado para confirmação de resultados negativos na IDGA, o que diminuirá os riscos de se manter em um rebanho um animal falso-negativo, que servirá como reservatório e fonte de infecção das lentivirose a outros animais (Modolo et al., 2007).

Em condições de campo, nem sempre é possível lograr sucesso na execução de um programa de controle que envolve a adoção de medidas de manejo como as descritas neste trabalho, uma vez que é essencial sua rigorosa observância durante longos períodos. Assim, o programa torna-se passível de falhas que podem comprometê-lo de forma irreversível (Castro et al., 1994).

CONCLUSÃO

Com base nestes resultados conclui-se que as medidas de manejo empregadas (nascimento por parto acompanhado, separação das mães imediatamente após o nascimento, e a administração de colostro artificial e colostro tratado termicamente) não foram suficientes para evitar a infecção pelos LVPR de crias de cabras soropositivas, uma vez que, possivelmente, ocorreu infecção intrauterina e/ou falha na inativação do vírus no colostro e leite, além da transmissão horizontal.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de doutorado e de DTI. À Fundação de Amparo à Ciência e

OLIVEIRA, M.M.M. et al. Soroconversão de cabritos submetidos a um programa de controle para Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR). **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 28, Ed. 133, Art. 903, 2010.

Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), pelo suporte financeiro.

LITERATURA CITADA

Adams, D.S., Klevjer-Anderson, P., Carlson, J.L.; McGuire, T.C.; Gorham, J.R. Transmission and control of caprine arthritis-encephalitis virus. *American Journal Veterinary Research*, v.44, p.1670-1675, 1983.

Álvarez, V.; Arranz, J.; Daltabuit-Test, M.; Leginagoikoa, I.; Juste, R.A.; Amorena, B.; de Andrés, D.; Luján, L.L.; Badiola, J.J.; Berriauta, E. Relative contribution of colostrum from Maedi-Visna virus (MVV) infected ewes to MVV-seroprevalence in lambs. *Research in Veterinary Science*, v. 78, p. 237-243, 2005.

Andrioli, A.; Gouveia, A.M.G.; Pinheiro, R.R.; et al. Detecção of DNA pró-viral do lentivírus caprino em sêmen de bodes naturalmente infectados. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 23, n. 3, p. 420-423, 1999.

Brasil, Ministério Da Agricultura Pecuária E Abastecimento. Instrução Normativa Nº 87, DE 10 DE DEZEMBRO DE 2004a. Aprova o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos. <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>. 04 Abr. 2006.

Brasil, Ministério Da Agricultura Pecuária E Abastecimento. Portaria Nº 103, DE 07 DE DEZEMBRO DE 2004b. Submete à consulta pública, por um prazo de 60 (sessenta) dias, a contar da data da publicação desta Portaria, o Projeto de Instrução Normativa e seus Anexos, que aprova o Plano Nacional de Vigilância e Controle das Lentiviroses de Pequenos Ruminantes. <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>. 04 Abr. 2006.

Brodie, S.J.; De La Concha-Bermejillo, A.; Koenig, G.; Snowden, G.D.; DeMartini, J.C. Maternal factors associated with prenatal transmission of ovine lentivirus. *Journal of Infectious Disease*, v.169, p.653-657, 1994.

Callado, A.K.C.; Castro, R.S.; Teixeira, M.F.S. Lentivírus de Pequenos Ruminantes (AEV e Maedi-Visna): Revisão e perspectivas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 21, n. 3, p. 87-97, 2001.

Castro, R.S. Política Oficial em Sanidade Ovina no Brasil. *In: Anais.... XXXIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária (CONBRAVET)*, 2006.

Castro, R. S.; Leite, R. C.; Azevedo, E. O.; Resende, M.; Gouveia, A.M.G. Seroconversion and seroreactivity patterns of dairy goats naturally exposed to caprine arthritis-encephalitis virus in Brazil. *Ciência Rural*, v. 32, p. 603-607, 2002.

Castro, R.S.; Melo, L.E.H. CAEV e Maedi-visna: Importância na saúde e produtividade de caprinos e ovinos e a necessidade de seu controle no Nordeste brasileiro. *Ciência Veterinária nos Trópicos*. v. 4, n. 2/3, p. 315-321, 2001.

Castro, R.S. Emprego da biotecnologia da reprodução no controle da artrite-encefalite caprina: Revisão. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 18, p. 55-68, 1994.

East, N.E.; Rowe, J.D.; Dahlberg, J.E.; Theilen, G.H.; Pedersen, N.C. Modes of transmission of caprine arthritis-encephalitis virus infection. *Small Ruminant Research*.v.10, p. 251-262, 1993.

Ellis, T. M.; Carman, H.; Robinson, W. F.; Wilcox, G.E. The effect of colostrum-derived antibody on neo-natal transmission of caprine arthritis-encephalitis virus infection. *Australian Veterinary Journal*, v. 63, p. 242-245, 1986.

Fieni, F.; Rowe, J.; Van Hoosear, K.; Burucoa, C.; Oppenheim, S.; Anderson, G.; Murray, J.; BonDurant, R. Presence of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) proviral DNA in genital tract tissues of superovulated dairy goat does. *Theriogenology*. v.59, p.1515-1523. 2003.

OLIVEIRA, M.M.M. et al. Soroconversão de cabritos submetidos a um programa de controle para Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR). **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 28, Ed. 133, Art. 903, 2010.

Houwers, D.J., Van Der Molen, E.J. A five-year serological study of natural transmission of maedi-visna virus in a flock of sheep, completed with post mortem investigation. *Journal of Veterinary Medicine – Series B.*, v.34, p.421-431, 1987.

Mackenzie, R.W.; Oliver, R.E.; Rooney, J.P. A successful attempt to raise goat kids free of infection with caprine arthritis encephalitis virus in a endemically infected goat herd. *New Zeland Veterinary Journal.* v. 35, p.184-186, 1987.

Modolo, J.R.; Stachissini, A.V.M.; Padovani, C.R.; Castro, R.S. PCR associated with agar gel immunodiffusion for diagnosis of viral caprine arthritis-encephalitis. *Small Ruminat Research*, 2007 (no prelo).

Oliveira, M.M.O.; Castro, R.S.; Melo, M.A; Andrade, P.P.; Gomes, S.M.; Campo, A.C.; Nascimento, S.A. *Western blot* para diagnóstico de lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR), usando protocolo simples para obtenção de antígeno. Submetido a publicação, 2007.

Pugh, D.G. *Clínica de Ovinos e Caprinos*. Roca, São Paulo, 2005, 513p.

Saraiva Neto, A.O.; Castro, R.S.; Birgel, E.H.; Nascimento, S.A. Estudo soro-epidemiológico da Artrite-encefalite Caprina em Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira.* v.15, n. 4, p.121-124, 1995.