

IDENTIFICAÇÃO DO MAEDI-VISNA VÍRUS EM PULMÃO DE OVINOS INFECTADOS NATURALMENTE

S.A.C. Araújo, T.V.M. Dantas, J.B.A. Silva, A.L. Ribeiro, A.R.F. Ricarte, M.F.S. Teixeira

Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária, Laboratório de Virologia, Av. Paranjana, 1700, CEP 60740-000, Fortaleza, CE, Brasil.

RESUMO

Maedi-Visna (MV) é uma doença crônica e progressiva de ovinos. O agente etiológico Maedi-Visna Vírus (MVV) é um lentivírus pertencente à família Retroviridae. As principais manifestações da inflamação induzida pelo MVV são perda progressiva de peso, pneumonia intersticial, encefalite, mastite, artrite e linfadenopatia. Com o objetivo de identificar o Maedi-Visna Vírus e lesões pulmonares sugestivas da doença, foram coletadas amostras de sangue e fragmentos pulmonares de 223 ovinos provenientes de abatedouros da região metropolitana de Fortaleza. Os soros foram submetidos ao teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA) utilizando-se um “kit” diagnóstico para Maedi-Visna fornecido pela Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os fragmentos pulmonares foram submetidos ao processamento clássico de histologia e imunoistoquímica. Constatou-se que 11 amostras (4,93%) apresentavam-se positivas para o teste de IDGA. As lesões microscópicas pulmonares caracterizaram-se por espessamento dos septos interalveolares, infiltração linfocitária difusa e multifocal, além de áreas de atelectasia e agregados linfóides. No que diz respeito à técnica de imunoistoquímica verificou-se a presença da proteína vírica em células do septo interalveolar. Desta forma, concluiu-se que as lesões microscópicas encontradas caracterizam pneumonia intersticial e que a técnica de imunoistoquímica permitiu identificar o agente viral em fragmentos pulmonares de ovinos naturalmente infectados.

PALAVRAS-CHAVE: Lentivírus, histopatologia, imunoistoquímica e Maedi-Visna.

ABSTRACT

IDENTIFICATION MAEDI-VISNA VIRUS IN SHEEP LUNG INFECTED NATURALLY. Maedi-Visna is a chronic and progressive disease of sheep. The etiologic agent Maedi-Visna Virus (MVV) is a lentivirus belonging to the Retroviridae family. The main manifestations of the inflammation induced by MVV are progressive weight loss, interstitial pneumonia, encephalitis, mastitis, arthritis, and lymphadenopathy. With the objective of identifying Maedi-Visna Virus and suggestive lung lesions of the disease, samples of blood and lung fragments of 223 sheep were collected in slaughterhouses of the metropolitan area of Fortaleza, State of Ceará, Brazil. The serum samples were submitted to the agar-gel immunodiffusion test (AGIDT) using a kit diagnosis for Maedi-Visna supplied by the Federal Rural University of Pernambuco. The lung fragments were submitted to the processing of classic histologic and immunohistochemistry. It was verified that 11 (4.93%) were positive for the IDGA. The lung microscopic lesions were characterized by thickening of the interalveolar septa, diffuse and multifocal infiltration of lymphocytes, atelectasis and lymphoid aggregates. Concerning the immunohistochemistry technique the presence of a viric protein was verified in cells of the interalveolar septa. It was therefore concluded that the microscopic lesions found characterize a pneumonia interstitial and that the immunohistochemistry technique allowed for the demonstration of the viral agent naturally in lung fragments of infected sheep.

KEY WORDS: Lentiviruses, histopathology, immunohistochemistry and Maedi-Visna.

INTRODUÇÃO

Maedi-Visna é doença crônica e progressiva de ovinos descrita por SIGURESSON *et al.*, (1954) na Islândia e presente em todo o mundo com exceção da Austrália

e Nova Zelândia (BRODIE *et al.*, 1998). O agente etiológico Maedi-Visna Vírus (MVV) é um Lentivírus pertencente à família Retroviridae. Este se relaciona antígenicamente com o Vírus da Artrite-Encefalite Caprina (CAEV). A Maedi-Visna e a CAE são denominadas de

Lentivirose de Pequenos Ruminantes (LVPR) (MOOJEN, 2001).

A doença é caracterizada por longo período de incubação, inflamação linfoproliferativa progressiva, e lento desenvolvimento dos sintomas (PEPIN *et al.*, 1998). Os principais órgãos acometidos são os pulmões (SIGURDSSON *et al.*, 1952) e o sistema nervoso central (SIGURDSSON *et al.*, 1957), no entanto, o úbere e as articulações também podem ser afetados (CUTLIP *et al.*, 1985a, b). O vírus infecta células da linhagem monócito-macrófago, porém o RNA vírico tem sido identificado também em outros tipos celulares (BRODIE *et al.*, 1995; RYAN *et al.*, 2000). As maiores manifestações da inflamação progressiva induzida pelo MVV são perda progressiva de peso, pneumonia intersticial, encefalite, mastite, artrite e linfadenopatia (BRODIE *et al.*, 1998).

A alta variabilidade genômica do vírus tem contribuído para a origem de muitas cepas virais com diferente patogenicidade (DE LA CONCHA-BERMEJILLO, 1997); por esta razão, as manifestações clínicas e patológicas da infecção pelo MVV em áreas geográficas diferentes podem ser variáveis.

No Brasil a presença de ovinos infectados pelo MVV foi registrada primeiramente por MOOJEN *et al.*, (1986). Durante anos o semi-árido nordestino foi considerado livre desta enfermidade, talvez pela inexistência de dados que confirmassem a sua ocorrência. No entanto, nos últimos anos algumas pesquisas vieram confirmar a ocorrência em alguns estados nordestinos como Pernambuco (ABREU *et al.*, 1998), Ceará (ALMEIDA, 2003) e Rio Grande do Norte (SILVA, 2003), onde a sorologia positiva de um número significativo de animais indicou que há necessidade de maior controle da enfermidade nos rebanhos nordestinos onde se situa o maior plantel do Brasil (VASCONCELOS & VIEIRA, 2003).

O Objetivo deste estudo é avaliar as lesões pulmonares e identificar o Maedi-Visna Vírus em ovinos naturalmente infectados.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram coletadas 229 amostras de soro e fragmentos pulmonares de animais da espécie ovina, dos quais 75 eram machos e 148 fêmeas, SRD, com idade entre 1 e 5 anos, provenientes de abatedouros da região metropolitana de Fortaleza.

Sorologia

A sorologia para infecção pelo Maedi-Visna Vírus foi realizada pelo método de Imunodifusão em Gel de

Agarose (IDGA), adquirido junto a Universidade Federal Rural do Pernambuco, que consiste na detecção de linhas de precipitação nos casos positivos, decorrentes da reação antígeno-anticorpo.

Avaliação macroscópica dos pulmões

Durante o abate os pulmões eram avaliados macroscopicamente quanto à coloração, textura e consistência.

Histopatologia

Foram retirados fragmentos de 2 x 2 cm em cortes transversais e longitudinais em seguida fixados em formalina a 10%, neutra e tamponada. Foram analisadas histopatologicamente as amostras pulmonares dos animais sorologicamente positivos. O grupo controle negativo consistiu no mesmo número de amostras soropositivas, cujos pulmões foram devidamente processados. Os fragmentos pulmonares foram desidratados em séries crescentes de etanol, diafanizados em xilol, incluídos em parafina para obtenção de cortes seriados à espessura de 5 µm e corados pela técnica da Hematoxilina-Eosina (HE), segundo LUNA (1968) e examinadas ao microscópio óptico.

Imunoistoquímica

Foi utilizada a metodologia descrita por CAPUCCHIO *et al.*, (2003) modificada, onde secções (5 µm) foram desparafinizadas, rehidratadas e incubadas em tampão citrato 10 mM (pH 6,0) no microondas, potência máxima (700 watts), por 3 x 3min para recuperação de antígenos. A atividade da peroxidase endógena foi bloqueada com peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 3% em metanol com duas trocas de 5min cada. As ligações inespecíficas foram bloqueadas pela incubação das amostras por 20min em soro de equino. As secções foram tratadas com soro positivo específico para MV (IgG anti-gp 135) por 18h a 4° C, lavadas em PBS e incubadas com IgG anti-ovino conjugada a peroxidase (Sigma Chemical Co) por 30min a 37° C a uma diluição de 1:500. A reação foi revelada pela adição do diaminobenzidine (DAB) (Sigma Chemical Co) por 5min. As lâminas foram contracoradas com Hematoxilina de Harris por 1min, montadas e analisadas em um microscópio óptico.

Análise Estatística

Fatores como faixa etária e sexo foram submetidos ao teste não-paramétrico qui-quadrado (X²) adotando-se o nível de significância igual a 5% conforme recomendado por SPIEGEL (1985).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 229 amostras coletadas, seis amostras de sangue foram perdidas durante o transporte, e estes animais foram descartados da análise para Maedi-Visna.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a prevalência da infecção pelo MVV nas diferentes faixas etárias pesquisadas e nem entre a proporção de machos e fêmeas infectados. Discordando desta forma com o que foi afirmado por SIMARD & MORLY (1991) que encontraram uma maior incidência de Maedi-Visna com o aumento da idade em rebanhos canadenses. ARSENAULT *et al.* (2003) também encontraram maior prevalência de ovinos adultos infectados, mas não encontraram diferença significativa quando avaliada a categoria sexo, concordando desta forma com o presente estudo.

A análise sorológica para infecção pelo MVV, realizada através do teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA), nos 223 ovinos revelou um percentual de 4,93% ($n = 11$) de animais soropositivos para a infecção pelo MVV, sendo 6 machos e 5 fêmeas. Este resultado foi bastante inferior à taxa de infecção encontrada por SILVA (2003), em levantamento sorológico realizado em ovinos criados de forma extensiva, no Estado do Rio Grande do Norte onde o autor encontrou uma prevalência de 21,3% de animais soropositivos para a infecção pelo MVV. A diferença entre os resultados encontrados pode ser justificada pela procedência dos animais amostrados, uma vez que os utilizados no presente trabalho eram provenientes de abatedouros e conseqüentemente a idade dos mesmos era baixa, com exceção daqueles considerados descartes. Desta forma como a Maedi-Visna é caracterizada por ser crônica, devido ao seu longo período de incubação (PEPIN *et al.*, 1998) a mesma tem maior prevalência em animais na idade adulta, característica esta não obtida no presente trabalho como confirmada por ARSENAULT *et al.* (2003). Os resultados obtidos também foram inferiores aos verificados por SCHALLER *et al.* (2000) e BAUMGARTNER *et al.* (1990) que pesquisando a presença de anticorpos contra Maedi-Visna na Suíça e na Alemanha, estes encontraram uma prevalência de 9 e 12%, respectivamente. O IDGA é o método sorológico mais amplamente utilizado para detecção de anticorpos contra o MVV, e sua sensibilidade depende do antígeno utilizado. A utilização de antígenos específicos confere sensibilidade 35% maior que a utilização de antígenos heterólogos, como o CAEV. No entanto mesmo em testes de IDGA que utilizam antígenos específicos, há diferença na sensibilidade da técnica (KNOWLES, 1997). ADAMS & GORHAM (1986) relatam que a gp 135 confere maior sensibilidade à técnica de IDGA que a p 28.

A avaliação macroscópica das 212 amostras pulmonares, oriundas de animais soronegativos para o MVV, demonstrou que 83 (37,22%) apresentavam-se normais. Enquanto que as 129 amostras soronegativas restantes apresentaram alterações macroscópicas semelhantes as soropositivas. Das 11 amostras soropositivas, 8 (72,73%) apresentaram lesões pulmonares a macroscopia quando avaliadas características como coloração e consistência, conforme constada Tabela 1. Estas alterações macroscópicas observadas foram semelhantes às descritas por CUTLIP *et al.* (1980) e OLIVER *et al.* (1981).

De acordo com JONES *et al.* (2000) os pulmões apresentam consistência densa e coloração acinzentada devido a grande aumento na espessura das paredes alveolares. Esse espessamento é causado pela proliferação e infiltração de células reticuloendoteliais ou mesenquimatosas que invadem os septos em todos os locais. Como ocorre em muitos tipos de proliferação reticuloendotelial, as células variam, desde grandes formas mononucleares redondas, algumas das quais parecendo ser macrófagos, até células fibroblásticas curtas.

Foram observadas também aderências entre os lobos pulmonares, entre as pleuras parietal e visceral e entre a pleura visceral, diafragma e pericárdio, extensas áreas de hepatização dorsocaudais além de áreas de congestão, edema e atelectasia.

As alterações microscópicas foram classificadas em escores e estão na Tabela 2. Estas alterações foram principalmente graus variados de espessamento dos septos interalveolares, com aumento da celularidade, fibroplasia, infiltração linfocitária difusa e multifocal. Verificaram-se também áreas de atelectasia (Fig. 1A) e agregado linfóide (Fig. 1B), sendo este achado semelhante ao encontrado por PREZIUSO *et al.* (2003) na análise de pulmão de ovinos infectados experimentalmente com MVV.

Tabela 1 - Distribuição de lesões pulmonares de acordo com a sorologia para Maedi-Visna em ovinos abatidos em Fortaleza, Ceará (2004).

Alterações macroscópicas	Soropositivo		Soronegativo	
	n	%	n	%
Normal	3	27,27	83	39,15
Coloração				
Anêmica	2	18,19	29	13,68
Acinzentada	3	27,27	73	34,43
Hemorrágica	3	27,27	27	12,74
Total	8	100,00	129	100,00
Consistência				
Densa	4	36,36	82	38,68
Enfizematosa	4	36,36	47	22,17
Total	8	100,00	129	100,00

Os achados macro e microscópicos observados são similares aos relatados por LUIJÁN *et al.* (1991), MORNEX *et al.* (1994), SERAKIDES *et al.* (1996) e CARROZZA *et al.* (2003) em que as principais alterações encontradas foram aderência pleural, hepatização, espessamento do septo alveolar, devido a infiltração de linfócitos e macrófagos, formação de agregados linfóides, infiltração linfocitária focal e difusa.

A imunomarcação ocorreu no citoplasma de células localizadas no septo interalveolar. (Fig. 2A). Esse achado está de acordo com o obtido por PEREIRA

Tabela 2 - Categorias das amostras soropositivas para Maedi-Visna em pulmão de ovinos segundo as alterações microscópicas. Fortaleza, Ceará (2004).

Aspectos microscópicos	Frequência	
	Absoluta (n)	Relativa (%)
Infiltração linfocitária multifocal		
(1)	11	100,00
(2)	2	18,18
(3)	6	54,55
Infiltração linfocitária difusa		
(1)	9	81,82
(2)	2	18,18
(3)	1	9,09
Espessamento do septo alveolar		
(1)	6	54,55
(2)	5	45,46
(3)	0	0,00

(1995), SERAKIDES *et al.* (1996), STORSET *et al.* (1997), GUEDES *et al.* (2001), PREZIUSO *et al.* (2003) e CARROZZA *et al.* (2003), os quais também obtiveram imunomarcação em células presentes no septo interalveolar e em outras não encontradas no presente trabalho como macrófagos. A imunomarcação de apenas uma célula encontra paralelo em relato de BLACKLAWS *et al.* (1994), no qual em fragmentos de pulmões coletados durante surtos de Maedi-Visna, apenas uma ou duas células antígeno-positivas eram encontradas por cortes corados pela técnica de imunistoquímica. Em todas as etapas deste processo foram utilizadas lâminas controle de negativo (Fig 2 B), para possível detecção de marcações inespecíficas do anticorpo secundário.

Como os animais analisados não apresentavam sintomatologia respiratória e eram na sua grande maioria jovens, ainda não havia quantidade suficiente de proteínas estruturais para as quais os anticorpos utilizados nas técnicas de imunistoquímica são desenvolvidos. O anticorpo utilizado foi produzido contra a proteína estrutural do MVV gp135, conferindo ao teste uma alta sensibilidade, no entanto provavelmente o vírus encontrava-se integrado ao DNA genômico do hospedeiro, na forma de DNA provírus, porém não havendo proteínas estruturais codificadas em quantidade suficiente para sua detecção pela imunistoquímica (HAASE, 1986).

A presença do vírus, de partículas víricas ou do ácido nucléico viral nos pulmões de ovinos infectados pelo MVV foi relatada por diversos autores (BRODIE *et al.*, 1995; CARROZZA *et al.*, 2003; CAPUCCHIO *et al.*, 2003; PREZIUSO *et al.*, 2003).

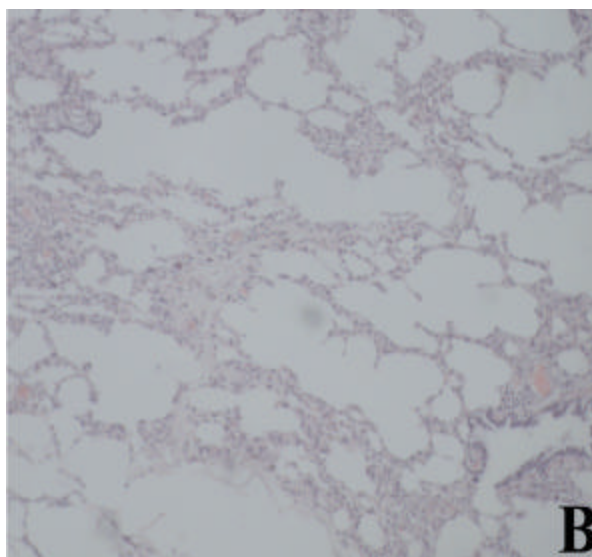
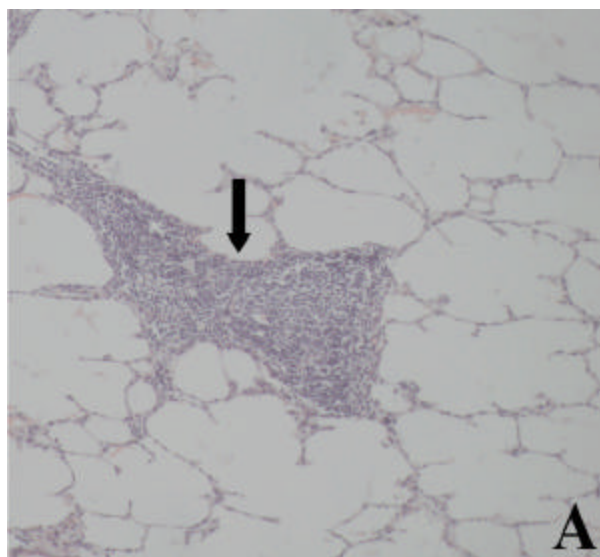


Fig. 1 - Fotomicrografia de corte histológico de pulmão de ovino acometido de Maedi-Visna. A - Agregado linfóide (seta). H.E. 20X. B - Áreas de atelectasia. H.E. 20X.

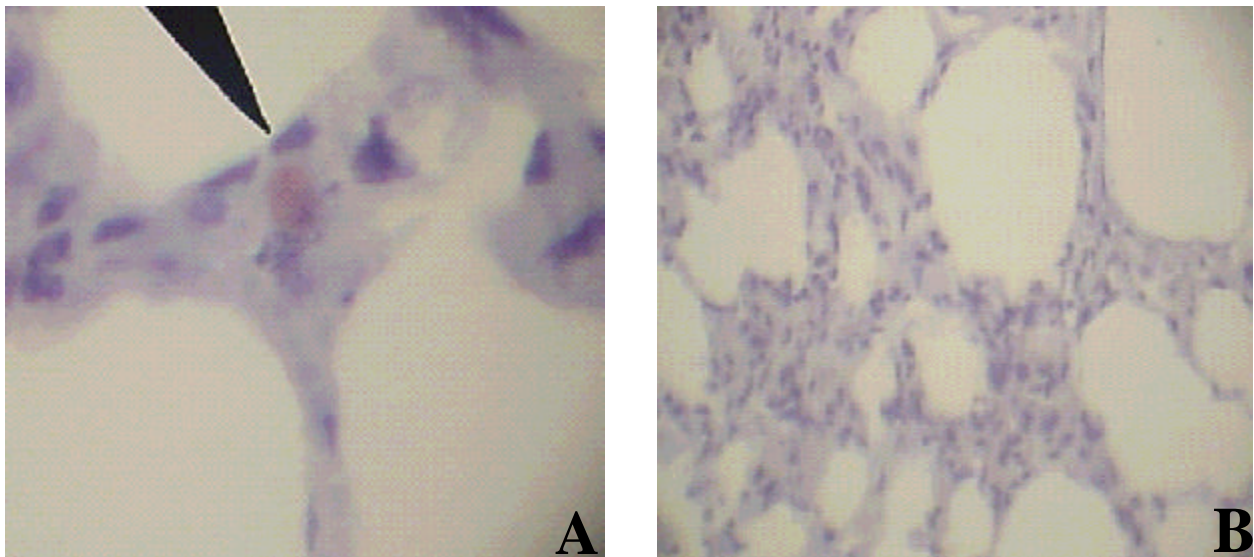


Fig. 2 - Fotomicrografia de corte histológico de pulmão de ovino acometido de Maedi-Visna. Imunoistoquímica para gp 135. A - Imunoreação no citoplasma de célula do septo alveolar. Contracoloração com Hematoxilina de Harris. 400X. B - Controle negativo. 200X.

A sensibilidade da prova de imunoistoquímica é influenciada por vários fatores, entre eles o anticorpo primário utilizado, a técnica de fixação e as condições microscópicas. A formalina reduz a sensibilidade da técnica quando utilizado soro imune ou anticorpos monoclonais contra epítopos de proteínas (VALNES *et al.*, 1984).

CONCLUSÕES

A prevalência de infecção por Maedi-Visna nas amostras pesquisadas foi de 4,93%.

As lesões histopatológicas encontradas foram sugestivas de Maedi-Visna.

A técnica de imunoistoquímica permitiu a demonstração do agente viral em secções de pulmão processado pela técnica de inclusão em parafina em conforme com a sorologia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, S.R.O.; CASTRO, R.S.; NASCIMENTO, S.A. produção de antígeno nucleoprotéico do vírus da artrite encefalite caprina e comparação com o vírus maedi-visna para imunodifusão em ágar-gel. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.18, n.2, p.57-60, 1998.
- ADAMS, D.S. & GORHAM, J.R. The gp 135 of caprine arthritis encephalitis virus affords greater sensitivity than the p28 in immunodiffusion serology. *Res. Vet. Sci.*, v.40, p.157-160, 1986.
- ALMEIDA, N.C. *Isolamento e identificação do vírus Maedi-Visna através de microscopia eletrônica de transmissão de animal comprovadamente soropositivo pelo IDGA*. Fortaleza: 2003. 68p. [Dissertação (Mestrado) – Faculdade de veterinária, Univ. Estadual Ceará].
- ARSENAULT, J.; GIRARD, C.; DUBREUIL, P.; DAIGNAULT, D.; GALARNEAU, J.; BOISCLAIR, J.; SMARD, C.; BÉLANGER, D. Prevalence of and carcass condemnation from maedi-visna, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada. *Prev. Vet. Med.*, v.59, p.67-81, 2003.
- BAUMGARTNER, W.; RECKINGER, M.; PERNTNER, A.; LEITOLD, B. The occurrence and distribution of maedi-visna virus in lower Austrian sheep breeding establishments. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*, v.97, n.11, p.465-469, 1990.
- BLACKLAWS, B.A.; BIRD, P.; ALLEN, D.; MCCONNELL, I. Circulating cytotoxic T lymphocyte precursors in maedi-visna virus-infected sheep. *J. Gen. Virol.*, v.75, p.1589-1596, 1994.
- BRODIE, S.J.; PEARSON, L.; ZINK, M.; BICKLE, H.; ANDERSON, B.; MARCOM, K.; DE MARTINI, J. Ovine lentivirus expression and disease. Virus replication, but not entry, is restricted to macrophages of specific tissues. *Am. J. Pathol.*, v.146, p.250-263, 1995.
- BRODIE, S.J.; CONCHA-BERMEJILLO, A.; SNOWDER, G.D. Current concepts in the epizootiology, diagnosis, and economic importance of ovine progressive pneumonia in North America: a review. *Small Rumin. Res.*, v.27, p.1-17, 1998.
- CAPUCCHIO, M.T.; SANNA, E.; SANNA, M.P.; FARIGU, S.; MINELLI, R.; GUARDA, F. Maedi-Visna Virus detection in ovine third eyelids. *J. Comp. Pathol.*, v.129, p.37-43, 2003.
- CARROZZA, M.L.; MAZZEI, M.; BANDECCHI, P.; ARISPICI, M.; TOLARI, F. In situ PCR-associated immunohistochemistry identifies cell types harbouring the Maedi-Visna virus genome in tissue sections of sheep infected naturally. *J. Virol. Methods.*, v.107, p.121-127, 2003.
- CUTLIP, R.C.; JACKSON, T.A.; LEHMKUHL, H.D. Lesions of ovine progressive pneumonia: interstitial pneumonia and encephalitis. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, n.10, p.1370-1374, 1980.

- CUTLIP, R.C.; LEHMKUHL, H.D.; BROGDEN, K.A.; BOLIN, S.R. Mastitis associated with ovine progressive pneumonia virus infection in sheep. *Am. J. Vet. Res.*, v.46, p.326-328, 1985a.
- CUTLIP, R.C.; LEHMKUHL, H.D.; WOOD, R.L.; BROGDEN, K.A. Arthritis associated with ovine progressive pneumonia. *Am. J. Vet. Res.*, v.46, p.65-68, 1985b.
- DE LA CONCHA-BERMEJILLO, A. Maedi-Visna and ovine progressive pneumonia. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v.13, n.1, p.13-33, 1997.
- GUEDES, M.I.M.C.; SOUZA, J.C.A.; GOUVEIA, A.M.G. Infecção experimental em cabritos pelo vírus da artrite encefalite. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.53, n.1, p.1-7, 2001.
- HAASE, A.T. Pathogenesis of lentivirus infections. *Nature*, v.322, p.130-136, 1986.
- KNOWLES JUNIOR, D.P. Laboratory diagnostic tests for Retrovirus infections of small ruminants. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v.13, p.1-11, 1997.
- JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. *Patologia veterinária*. 6.ed. São Paulo: Manole, 2000. p.341.
- LUIJÁN, L.; GARCÍA, J.F.M.; FERNÁNDEZ DE LUCO, D.; VARGAS, A.; BADIOLA, J.J. Pathological changes in lungs and mammary glands of sheep and their relationship with maedi-visna infection. *Vet. Rec.*, v.129, p.51-54, 1991.
- LUNA, L.C. *Manual of histologic staining: methods of the armed forces Institute of Pathology*. 3.ed. New York: McGraw, 1968. 258p.
- MOOJEN, V.; SOARES, H.C.; RAVAZZOLO, A.P.; PIZZOL, M.; GOMES, M. Evidência de infecção pelo lentivírus (Maedi/Visna - Artrite Encefalite Caprina) em caprinos no Rio Grande do Sul, Brasil. *Arq. Fac. Med. Vet. Univ. Fed. Rio Grande do Sul*, v.1, p.77-78, 1986.
- MOOJEN, V. Maedi-Visna dos ovinos. In: RIET-CORRÊA, F. (Ed.). *Doenças de ruminantes e eqüinos*. São Paulo: Varela, 2001. v.1, p.138-144.
- MORNEX, J.F.; LENA, P.; LOIRE, R.; COZON, G.; GREELAND, T.; GUIGEN, F.; JACQUIER, M.F.; CORDIER, G. Lentivirus-induced interstitial lung disease: pulmonary pathology in sheep naturally infected by the visna-maedi virus. *Vet. Res.*, v.25, n.5, p.478-488, 1994.
- OLIVER, R.E.; GORHAM, J.R.; PARISH, S.F.; HADLOW, W.J.; NARAYAN, O. Ovine progressive pneumonia: pathologic and virologic studies on the naturally occurring disease. *Am. J. Vet. Res.*, v.42, p.1554-1559, 1981.
- PEPIN, M.; VITU, C.; RUSSO, P.; MORNEX, J.P.; PETERHANS, E. Maedi-visna virus infections in sheep: a review. *Vet. Res.*, v.29, p.341-367, 1998.
- PEREIRA, M.F. *Artrite-encefalite caprina a vírus (CAE) - estudo anatomopatológico e imuno-histoquímico em cabras naturalmente infectadas*. Belo Horizonte: 1995. 64p. [Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Univ. Fed. Minas Gerais].
- PREZIUSO, S.; TACCINI, E.; ROSSI, G.; RENZONI, G.; BRACA, G. Experimental maedi visna virus infection in sheep: a morphological, immunohistochemical and PCR study after three years of infection. *Europ. J. Histochem.*, v.47, n.4, p.373-378, 2003.
- PREZIUSO, S.; TACCINI, E.; ROSSI, G.; RENZONI, G.; BRACA, G. Experimental maedi visna virus infection in sheep: a morphological, immunohistochemical and PCR study after three years of infection. *Europ. J. Histochem.*, v.47, n.4, p.373-378, 2003.
- RYAN, S.; TYLEY, L.; MCCONNELL, J.; BLACKLAWS, B. Infection of dendritic cells by the maedi-visna lentivirus. *J. Virol.*, v.74, n.21, p.10096-10103, 2000.
- SCHALLER, P.; VOGT, H.R.; STRASSER, M.; NETTLETON, P.F.; PETERHANS, E.; ZANONI, R. Seroprevalence of maedi-visna and border disease in Switzerland. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.*, v.142, n.4, p.145-153, 2000.
- SERAKIDES, R.; NUNES, V.A.; PEREIRA, M.F. Estudo clínico, anatomopatológico e imuno-histoquímico de pulmões de cabras naturalmente infectadas pelo vírus da artrite encefalite caprina (CAE). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.48, n.4, p.415-424, 1996.
- SIGURDSSON, B. Observations on three slow infections of sheep. Maedi, paratuberculosis, rida a slow encephalitis of sheep with general remarks on infections which develop slowly and some of their special characteristics. *Braz. Vet. J.*, v.110, p.255, 1954.
- SIGURDSSON, B.; GRIMSSON, H.; PALSSON, P.A. Maedi: a chronic progressive infection of sheep lungs. *J. Infec. Dis.*, v.90, p.233-241, 1952.
- SIGURDSSON, B.; PALSSON, P.A.; GRIMSSON, H. Visna: A demyelinating transmissible disease of sheep. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, v.16, p.389-403, 1957.
- SILVA, J.B.A. *Levantamento sorológico pelo teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA) da lentivirose ovina em rebanhos do Rio Grande do Norte, Brasil*. Fortaleza: 2003. 58p. [Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Veterinária, Univ. Estadual Ceará].
- SIMARD, C. & MORLEY, R.S. Seroprevalence of maedi-visna in Canadian sheep. *Can. J. Vet. Res.*, v.55, n.3, p.269-272, 1991.
- SPIEGEL, M.R. *Estatística*. 2.ed. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1985. p.249-271.
- STORSET, A.K.; EVENSEN, O.; RIMSTAD, E. Immunohistochemical identification of caprine arthritis-encephalitis virus in paraffin-embedded specimens from naturally infected goats. *Vet. Pathol.*, v.34, p.180-188, 1997.
- VALNES, K.; BRANDTZAEG, P.; ROGNUM, T. O. Sensitivity and efficiency of four immunohistochemical methods as defined by staining of artificial sections. *Histochemistry*, v.81, p.313-319, 1984.
- VASCONCELOS, V.R. & VEIRA, L.S. *A evolução da caprino-ovincultura brasileira* [online]. Disponível em: <<http://www.cnpc.embrapa.br/artigos>>. Acesso em: 30 ago. 2003.

Recebido em 29/11/04

Aceito em 29/12/04