

INFECÇÃO EXPERIMENTAL DO VÍRUS DA ARTRITE- ENCEFALITE DOS CAPRINOS EM CABRITOS

M.C.C.S.H. Lara¹, E.H. Birgel Junior², M.A. Fernandes³, E.H. Birgel²

¹Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, Instituto Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

No presente estudo, foi avaliada a transmissibilidade da infecção pelo vírus da Artrite-encefalite dos Caprinos, bem como a presença e atividade do mencionado vírus no colostro, leite e sangue circulante de animais acometidos pela enfermidade. Foram utilizados 15 caprinos, sendo a pesquisa de anticorpos séricos antivírus da AEC realizada pelas técnicas de imunodifusão em gel de ágar e ELISA. Demonstrou-se, indiretamente, a presença, viabilidade e patogenicidade do referido vírus no sangue circulante, colostro e leite de caprinos infectados, além da possibilidade de infectarem animais susceptíveis, por inoculação. O período de incubação do vírus variou entre 45 e 60 dias pós inoculação, sendo o teste ELISA mais sensível do que a prova de imunodifusão em gel de ágar, pois pôde detectar os anticorpos mais precocemente.

PALAVRAS-CHAVE: AEC, artrite, caprinos, leite, colostro, sangue.

ABSTRACT

CAPRINE ARTHRITIS-ENCEPHALITIS VIRUS EXPERIMENTAL INFECTION IN KID GOATS. Caprine arthritis-encephalitis virus transmission was evaluated, and the presence and activity of the virus circulating in blood, colostrum and milk of infected animals was studied in 15 seronegative kids, using agar gel immunodiffusion and ELISA. The presence and viability of the virus circulating in blood, colostrum and milk of infected animals, as well as the possibility of infection of susceptible animals by inoculation was indirectly demonstrated. Incubation period ranged from 45 to 60 days, being ELISA test more sensitive than agar gel immunodiffusion, because it could detect early antibodies.

KEY WORDS: CAEV, arthritis, caprine, milk, colostrum, blood.

INTRODUÇÃO

A Artrite-encefalite dos caprinos (AEC) é uma doença infecciosa, multissistêmica, causada por um lentivírus, que infecta caprinos de todas as idades. As principais manifestações clínicas da doença são as de leucoencefalomielite, que acomete cabritos, e de artrite, mais freqüente nos animais adultos (CORK *et al.*, 1974; CRAWFORD *et al.*, 1980). Os pulmões e a glândula mamária também podem ser afetados pelo vírus, causando, respectivamente, uma pneumonia crônica intersticial e uma mamite endurativa (SIMS *et al.*, 1983; LERONDELLE *et al.*, 1989; ROSADIO *et al.*, 1993; SMITH & SHERMAN, 1994). LARA (2002) demonstrou que 17,1% dos caprinos sororeagentes aos antígenos do vírus da AEC apresentavam a forma clínica articular da enfermidade e em 6,6% foi detectada, ao exame semiológico, a forma clínica mamária (mamite endurativa).

As principais vias de transmissão não estão, ainda, definitivamente esclarecidas, mas a ingestão de colostro e de leite de cabras infectadas são as duas formas mais importantes de transmissão da doença (CRAWFORD & ADAMS, 1981; ADAMS *et al.*, 1983; EAST *et al.*, 1987; ROWE *et al.*, 1992). Isso poderia ocorrer tanto pelo fato do cabrito mamar diretamente na cabra, como também por alimentar-se em sistema de amamentação coletiva, na qual o colostro ou leite proveniente de vários animais do rebanho, após mistura, seria administrado aos cabritos. O vírus teria condições de estar presente e viável nessas secreções lácteas, como vírus livre ou incorporado dentro de células somáticas, mantendo seu potencial de infectividade (SMITH & SHERMAN, 1994).

Outros mecanismos possíveis de transmissão horizontal do vírus podem ser: a exposição dos animais susceptíveis aos alimentos contaminados, água

²Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

³Ministério da Agricultura, Descalvado, SP, Brasil.

ou rações e forragens conspurcadas por secreções infectadas pelo vírus; exposição a aerossóis contendo partículas virais; o uso seriado de seringas, agulhas e tatuadores contaminados com sangue de caprinos infectados (SMITH & SHERMAN, 1994). Esses modernos conceitos sobre a transmissibilidade do vírus da Artrite-encefalite dos Caprinos se contrapuseram às afirmações que foram feitas por PERRIN & POLACK (1987), negando que a transmissão iatrogênica pudesse se constituir num fator de risco para disseminação da enfermidade.

O motivo de alguns rebanhos possuírem quase a totalidade dos animais infectados tem sido explicado e atribuído ao fato da infecção poder persistir por toda vida do animal e apresentar, inúmeras vezes, uma evolução assintomática, ou não diagnosticada, tornando esses animais fontes de infecção (NARAYAN & CORK, 1990).

O presente estudo tem como objetivo estudar a instalação da infecção do vírus da Artrite-encefalite dos Caprinos pela inoculação de leite, colostro e sangue infectados pelo vírus.

MATERIALE MÉTODOS

Para avaliar a transmissibilidade da infecção pelo vírus, bem como da presença e atividade do mencionado vírus no colostro, leite e sangue circulante de animais acometidos pela Artrite-encefalite dos Caprinos foram utilizados 15 caprinos, com idades variando entre seis e oito meses, que em sucessivos testes de imunodifusão em gel de ágar, não demonstraram a presença de anticorpos séricos antivírus da AEC. O delineamento experimental proposto permitiu que fosse, nos casos positivos de infecção, avaliado o período de incubação, considerado o momento das inoculações e aquele de detecção de anticorpos antivírus da AEC no soro sanguíneo dos cabritos inoculados, tanto por testes de imunodifusão em gel de ágar, como pela prova imunoenzimática - ELISA (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay). Para tal, formaram-se três grupos experimentais, cada um constituído por cinco cabritos: Grupo A - com cinco cabritos, inoculados por via intramuscular, com 5 mL de leite de cabra infectada; Grupo B - constituído por cinco animais inoculados por via intramuscular com 5 mL de colostro de cabra infectada e Grupo C - com cinco cabritos inoculados, indiretamente, com sangue de caprinos infectados pelo vírus, sendo a inoculação realizada com o uso de tatuadores contaminados com

sangue de animal infectado pelo vírus. Dos animais dos tres grupos, foram colhidas amostras de sangue, para obtenção de soro sanguíneo, antes das inoculações e a seguir, com intervalos de 15 dias, até que fosse possível demonstrar a soroconversão, evidenciando a infecção do cabrito pelo vírus da Artrite-encefalite dos Caprinos.

A pesquisa de anticorpos séricos antivírus da AEC por imunodifusão radial dupla em gel de ágar de Outcherlony foi realizada segundo a técnica preconizada por CUTLIP *et al.* (1977), utilizando os antígenos glicoprotéico (gp135) e protéico (p28) extraídos respectivamente do envelope e do capsídeo do vírus da AEC^a, seguindo as recomendações do fabricante do teste diagnóstico, seguindo as recomendações do fabricante.

Para a detecção de anticorpos antivírus da AEC pela técnica de ELISA^b, as amostras de soro foram submetidas à técnica usual recomendada para os testes imunoenzimáticos, segundo ARCHAMBAULT *et al.* (1988).

RESULTADOS

Os resultados da prova de imunodifusão para a Artrite-encefalite dos Caprinos nos soros sanguíneos dos 15 caprinos inoculados com colostro, leite e sangue infectados pelo vírus da Artrite-encefalite dos Caprinos estão detalhados na Tabela 1, segundo o inóculo que receberam e a via de inoculação.

Com a utilização da técnica de imunodifusão, pôde-se constatar que nos grupos C (animais inoculados pelo uso de tatuagens contaminadas com sangue infectado) e A (animais inoculados por via intramuscular com leite proveniente de cabra sororeagente ao vírus da Artrite-encefalite dos Caprinos) 20,0% (1/5) dos animais se tornaram soropositivos 45 dias após a inoculação. Os animais do grupo B (inoculados por via intramuscular com colostro proveniente de cabra soropositiva) soroconverteram 60 dias após a inoculação. Todos os animais tornaram-se soropositivos 60 dias pós-inoculação.

O teste imunoenzimático (ELISA), permitiu detectar-se a soroconversão mais precocemente, pois se verificou que 80% (4/5) dos caprinos dos grupos C e A, puderam ter anticorpos séricos detectados 45 dias após ter sido realizada a inoculação. No grupo B, 60% (3/5) apresentavam anticorpos séricos antivírus da Artrite-encefalite, 45 dias após as inoculações. Com 60 dias pós inoculação todos os caprinos tornaram-se sororeagentes.

^aCaprine Arthritis-Encephalitis Antibody Test Kit, Veterinary Diagnostic Technology, Inc., EUA.

^bChekkit CAEV/MVV, Bommeli AG, Berna, Suíça.

Tabela 1 – Resultados da prova de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) para a detecção de anticorpos antivírus da Artrite-encefalite dos Caprinos, em caprinos inoculados com colostro, leite e sangue infectados. Com asteriscos destacaram-se os resultados (em %) obtidos pelo teste ELISA. São Paulo, 2002.

Grupos	Períodos de colheitas e animais sororeagentes (%)				
	Antes da inoculação	15 dias após a inoculação	30 dias após a inoculação	45 dias após a inoculação	60 dias após a inoculação
A	0% (0/5)	0% (0/5)	0% (0/5)	20% (1/5) **	100% (5/5) ***
B	0% (0/5)	0% (0/5)	0% (0/5)	0% (0/5) *	100% (5/5) ***
C	0% (0/5)	0% (0/5)	0% (0/5)	20% (1/5) **	100% (5/5) ***

* = 60% (3/5) dos caprinos reagentes aos antígenos do vírus da Artrite-encefalite dos Caprinos pelo Teste de ELISA

** = 80 % (4/5) dos caprinos reagentes aos antígenos do vírus da Artrite-encefalite dos Caprinos pelo Teste de ELISA

*** = 100% (5/5) dos caprinos reagentes aos antígenos do vírus da Artrite-encefalite dos Caprinos pelo Teste de ELISA

DISCUSSÃO

Para elucidar algumas dúvidas em relação à transmissão horizontal do vírus causador da Artrite-encefalite dos Caprinos foi proposto experimento para a verificação da viabilidade do vírus, quer fosse pela presença de partículas livres, no colostro ou no leite, ou pela participação do genoma de células somáticas da secreção láctea, pois SMITH & SHERMAN (1994) destacaram que elas manteriam a potencialidade de serem infectantes. Por tal razão, foram constituídos estes três grupos experimentais, cada um constituído por cinco cabritos, com cerca de 6-8 meses de idade, sororeagentes negativos aos antígenos do vírus AEC, que foram inoculados com colostro, leite e por sangue contaminados pelo vírus da Artrite-encefalite dos Caprinos.

Os resultados obtidos demonstraram que 100% (5/5) dos caprinos tatuados usando equipamento contaminado com sangue de caprino infectado se infectaram. Ressalte-se, também, que 20% dos caprinos inoculados pelo uso de tatuadores contaminados soroconverteram 45 dias após o processamento da tatuagem e os demais 80% (4/5) tornaram-se sororeagentes 60 dias após a inoculação. Assim sendo, demonstrou-se a possibilidade da transmissibilidade iatrogênica por via horizontal do vírus da Artrite-encefalite dos Caprinos; concordando com afirmações de SMITH & SHERMAN (1994); discordando-se, entretanto, das observações de PERRIN & POLACK (1987), que negavam possibilidade da transmissão horizontal iatrogênica pelo uso indiscriminado e seriado de seringas, agulhas e tatuadores contaminados com sangue de caprinos infectados.

Além do mais, outras possibilidades de transmissão horizontal do vírus da Artrite-encefalite dos Caprinos já haviam sido detectadas por ADAMS *et al.* (1983).

Apesar das vias de transmissão e a forma como elas ocorreriam não serem ainda conside-

radas como definitivamente esclarecidas, aparentemente estabeleceu um conceito, que não pôde, pelos resultados obtidos neste trabalho, ser considerado como totalmente correto, definindo: que a ingestão do colostro e leite de cabras infectadas seriam os elos mais significativos na infecção dos animais susceptíveis. Tais conceitos foram estabelecidos e aceitos por: CRAWFORD & ADAMS (1981), ADAMS *et al.* (1983), EAST *et al.* (1987) e SMITH & SHERMAN (1994).

O discrepante resultado desta pesquisa com os referidos na literatura compulsada, obrigou que se avaliasse a viabilidade do vírus da Artrite-encefalite dos Caprinos no colostro e no leite e sua capacidade de infectar animais susceptíveis. Nestas circunstâncias o delineamento experimental programou inocular 5 ml de colostro e de leite de cabras infectadas por via intramuscular em cabritos sororeagentes negativos. Os resultados obtidos nos dois grupos experimentais demonstraram plena atividade e capacitação infectiva do vírus, quer estivessem na secreção lactea como partículas livres ou no interior das células somáticas do leite (SMITH & SHERMAN, 1994), pois os 10 caprinos utilizados nestes experimentos soroconverteram 60 dias após a inoculação. Os resultados destacaram que 20% (1/5) dos caprinos apresentavam a infecção, comprovada pela soroconversão e os demais 80% (4/5) 60 dias depois da inoculação. Tais resultados da soroconversão foram obtidos pela prova da imunodifusão em gel de ágar, porém quando as amostras foram examinadas pelo teste imunoenzimático – ELISA a comprovação da soroconversão foi mais precoce, pois nos cabritos inoculados com leite de caprino infectado 80% deles (4/5) demonstraram a infecção pela soroconversão 45 dias após a inoculação. Tais resultados confirmaram as conclusões apresentadas por KENNEDY-STOSKOPF *et al.* (1985) e NARAYAN & CORK (1990) em relação ao período de incubação e com HOWERS *et al.* (1982) ao demonstrar a maior sensibilidade dos testes ELISA na detecção do momento da soroconversão.

CONCLUSÃO

Demonstrou-se, indiretamente, a presença, viabilidade e patogenicidade do vírus da AEC no sangue circulante, colostro e leite de caprinos infectados, bem como a possibilidade desses fluidos orgânicos infectarem animais susceptíveis por inoculação, pois todos os cabritos sadios inoculados por tatuagens feitas com tatuador contaminado com sangue de caprinos sororeagentes positivos ao mencionado vírus apresentaram soroconversão persistente, comparando-se a possibilidade de transmissão horizontal iatrogênica da infecção da Artrite-encefalite dos caprinos e todos os cabritos inoculados por via intramuscular, tanto com colostro, como também com leite de cabras infectadas, demonstraram soroconversão persistente.

Demostrou-se, também, que o período de incubação do vírus em infecções determinadas por inoculação experimental variou entre 45 e 60 dias pós inoculação, sendo o teste imunoenzimático ELISA, mais sensível do que a prova de imunodifusão em gel de ágar, pois pôde detectar os anticorpos antivírus mais precocemente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, D.S.; KLEVIER-ANDERSON, P.; CARLSON, J.L.; MCGUIRE, T.C.; GORHAM, J. R. Transmission and control of caprine arthritis-encephalitis virus. *Am. J. Vet. Res.*, v.44, n.9, p.1670-1675, 1983.
- ARCHAMBAULT, D.; EAST, N.; PERK, K.; DAHLBERG, J.E. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for caprine arthritis-encephalitis virus. *J. Clin. Microbiol.*, v.26, n.5, p.971-975, 1988.
- CORK, L.C.; HADLOW, W.J.; CRAWFORD, T.B.; GORHAM, J.R.; PIPER, R.C. Infectious leukoencephalomyelitis of young goats. *J. Infect. Dis.*, v.129, n.2, p.134-141, 1974.
- CRAWFORD, T.B. & ADAMS, D.S. Caprine arthritis-encephalitis: clinical features and presence of antibody in selected goat populations. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.178, n.7, p.713-719, 1981.
- CRAWFORD, T.B.; ADAMS, D.S.; CHEEVERS, W.P.; CORK, L.C. Chronic arthritis in goats caused by a retrovirus. *Science*, v.207, n.29, p.997-999, 1980.
- CUTLIP, R.C.; JACKSON, T.A.; LAIRD, G.A. Immunodiffusion test for Ovine Progressive Pneumonia. *Am. J. Vet. Res.*, v.38, n.7, p.1081-4, 1977.
- EAST, N.E.; ROWE, J.D.; MADEWEL, B.R.; FLOYD, K. Serologic prevalence of caprine arthritis-encephalitis virus in California goat dairies. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.190, n.2, p.182-186, 1987.
- HOWERS, D.J.; GIELKENS, A.L.J.; SCHAAKE, J. An indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to maedi-visna virus. *Vet. Microbiol.*, v.7, n.1, p.209-219, 1982.
- KENNEDY-STOSKOPF, S.; NARAYAN, O.; STRANDBERG, J.D. The mammary gland as a target organ for infection with caprine arthritis-encephalitis virus. *J. Comp. Pathol.*, v.95, n.2, p.609-617, 1985.
- LARA, M.C.C.S.H. *Artrite-encefalite dos Caprinos – Aspectos clínicos e epidemiológicos*. São Paulo: 2002. 247p. [Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo].
- LERONDELLE, C.; FLEURY, C.; VIALARD, J. Le gland mammaire: organe cible de l'infection par le virus de l'arthrite et de l'encéphalite caprine. *Ann. Rech. Vet.*, v. 20, n.1, p.57-63, 1989.
- NARAYAN, O. & CORK, L.C. Caprine arthritis-encephalitis virus. In: DINTER, Z. & MOREIN, B. (Eds.) *Virus infections of ruminants*. Amsterdam, Netherlands: Elsevier Science, 1990. p.441-452.
- PERRIN, G. & POLACK, B. L'arthrite encéphalite caprine (CAE). *Bul. Acad. Vet. Fr.*, v.60, n.2, p.125-136, 1987.
- ROSADIO, R. & RIVERA, H. Mastitis intersticial linfoide asociada al virus de la artritis-encefalitis caprina. *Rev. Invest. Pecuaria*, v.6, n.2, p.119-123, 1993.
- ROWE, J.D.; EAST, N.E.; FRANTI, C.E.; THURMOND, M.C.; PEDERSEN, N.C.; THEILEN, G.H. Risk factors associated with the incidence of seroconversion to caprine arthritis-encephalitis virus in goats on California dairies. *Am. J. Vet. Res.*, v.53, n.12, p.2396-2403, 1991.
- ROWE, J.D.; EAST, N.E.; THURMOND, M.C.; FRANTI, C.E.; PEDERSEN, N.C. Cohort study of natural transmission and two methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats on a California dairy. *Am. J. Vet. Res.*, v.53, n.12, p.2386-2395, 1992.
- SIMS, L.D.; HALE, C.J.; MCCORMICK, B.M. Progressive interstitial pneumonia in goats. *Aust. Vet. J.*, v.60, n.12, p.368-371, 1983.
- SMITH, M.C. & SHERMAN, D.M. *Caprine arthritis encephalitis: Goat medicine*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994. p.73-79.

Recebido em 18/11/02

Aceito em 9/4/03