

IDENTIFICAÇÃO IMUNO-SOROLÓGICA DE ANTICORPOS ANTI-VÍRUS DA ARTRITE-ENCEFALITE DOS CAPRINOS: COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS DE IMUNODIFUSÃO EM GEL DE ÁGAR, ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO E IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA

**M.C.C.S.H. Lara¹, E.H. Birgel Junior², D. Reischak³, V. Moojen³,
L. Gregory¹, J.C.F. Oliveira¹, 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

A Artrite-encefalite dos caprinos (AEC) é uma doença infecciosa, multissistêmica, causada por um lentivírus, que acomete caprinos de todas as idades. As principais manifestações clínicas da doença são a leucoencefalomielite que acomete cabritos e a artrite mais freqüente nos animais adultos. Os pulmões e a glândula mamária também podem ser afetados pelo vírus causando, respectivamente, uma pneumonia crônica intersticial e uma mamite enduretiva. Esta pesquisa teve como objetivo comparar as técnicas de imunodifusão em gel de ágar, ensaio imunoenzimático e imunofluorescência indireta, utilizadas como técnicas auxiliares no diagnóstico da Artrite-encefalite dos caprinos, assim como avaliar a sensibilidade e a especificidade de cada uma das técnicas. Os valores de sensibilidade e especificidade obtidos no presente estudo, para o teste de ELISA foram de 100% e 83,78%, respectivamente. Para a técnica de imunofluorescência o valor de sensibilidade foi igual a 98,25% e o de especificidade 79,28%.

PALAVRAS-CHAVE: Artrite, encefalite, caprinos, imunodifusão, ensaio imunoenzimático, imunofluorescência.

ABSTRACT

IMMUNO-SEROLOGICAL IDENTIFICATION OF ANTIBODIES ANTI-CAPRINE ARTHRITIS-ENCEPHALITIS VIRUS: COMPARISON OF AGAR GEL IMMUNODIFFUSION, IMMUNOENZYMATIC AND INDIRECT IMMUNOFLUORESCENCE ASSAYS. Caprine arthritis encephalitis (CAE) is an infectious multisystemic disease caused by a lentivirus, and affects goats at all ages. Main clinical signs of the disease are leucoencephalomyelitis, which affects kids and arthritis, more frequent in adult animals. Lungs and the mammary gland may also be affected by the virus, causing, respectively, chronic interstitial pneumonia and indurative mastitis. The objective of the present trial was to compare the techniques used to aid CAE diagnosis – agar gel immunodiffusion, immunoenzymatic assay and indirect immunofluorescence – as well as to evaluate their sensitivity and specificity. Sensitivity and specificity obtained in this trial for ELISA were 100% and 83.78%, respectively. Immunofluorescence technique presented sensitivity equal to 98.25% and specificity equal to 79.25%.

KEY WORDS: Arthritis, encephalitis, caprine, immunodiffusion, immunoenzymatic assay, immunofluorescence.

INTRODUÇÃO

A Artrite-encefalite dos caprinos é uma doença infecciosa, multissistêmica, causada por um retrovírus, que acomete caprinos de todas as idades. As principais manifestações clínicas da doença são a

leucoencefalomielite que acomete cabritos (CORK *et al.*, 1974) e a artrite mais freqüente nos animais adultos (CRAWFORD *et al.*, 1980). Os pulmões e a glândula mamária também podem ser afetados pelo vírus da AEC, causando, respectivamente, uma pneumonia crônica intersticial, freqüentemente denominada por

²Faculdade de Medicina Veterinária, USP

³Faculdade de Medicina Veterinária, UFRGS

pneumonia progressiva dos caprinos (SIMS *et al.*, 1983), e uma mamite intersticial endurativa (LERONDELLE, *et al.*, 1989).

A doença é determinada pela infecção do vírus da Artrite-encefalite dos caprinos, lentivírus pertencente à família Retroviridae. A este mesmo gênero pertencem outros vírus de importância em patologia veterinária e humana, como os vírus da anemia infecciosa equina, o Maedi-Visna dos ovinos e das imunodeficiências felina (FIV), bovina (BIV), símia (SIV) e humana (HIV) (ZANONI, 1993).

Os animais infectados pelo vírus da AEC nem sempre apresentam alterações clínicas evidentes, por isso estabeleceu-se ser importante que o diagnóstico seja baseado, tanto nos antecedentes e no histórico, no exame físico do doente, como também em resultados de exames laboratoriais, principalmente, nas provas imuno-sorológicas para detecção de anticorpos virais (CRAWFORD & ADAMS, 1981).

A avaliação laboratorial da infecção pelo vírus da AEC pode ser feita por técnicas diretas ou indiretas. A detecção direta da presença do vírus pode ser realizada tanto pelo isolamento em cultura celular e evidênciação do vírus em microscopia eletrônica, como também através da reação em cadeia da polimerase e da hibridização *in situ*. A determinação indireta da infecção pelo vírus da AEC se faz pela detecção da presença de anticorpos por técnicas sorológicas como: imunodifusão em gel de agar (IDGA), ensaio imunoenzimático (ELISA), imunofluorescência indireta (IFI) e "Western Blot" (REISCHAK, 2000). Devido a praticidade na colheita das amostras e ao custo reduzido da realização das mencionadas provas os métodos sorológicos foram amplamente utilizados para auxiliar o diagnóstico da infecção pelo vírus da AEC.

Vários levantamentos sorológicos demonstraram a presença da infecção por este vírus, utilizando a prova de imunodifusão em gel de ágar, em várias regiões do mundo. Porém, essa frequência em alguns países era pequena como na Irlanda do Norte onde correspondia a 0,0% (ADAIR, 1986) e 4,3% na Inglaterra (DAWSON & WILESMITH, 1985). Já em outros, era grande: 27,1; 31,5; 56,7; 74,0 e 81,0%, respectivamente, no México, Alemanha, França, Itália e Estados Unidos (CRAWFORD & ADAMS, 1981; STRAUB, 1983; AGRIMI *et al.*, 1985; NAZARA *et al.*, 1985; PERRIN & POLACK, 1987). No Brasil, em vários estados, demonstrou-se a ocorrência da infecção pelo vírus da Artrite-encefalite dos caprinos em enquetes sorológicas, utilizando a técnica de imunodifusão em gel de ágar. Os resultados apresentaram números significantes na frequência dessa infecção viral, como por exemplo em Pernambuco, onde SARAIVA NETO *et al.* (1995) relataram índice de 17,6%; CUNHA & NASCIMENTO (1995) no Rio de Janeiro de 21,07%; FERNANDES (1997) em São

Paulo, de 29,8%; RAMALHO (2000) na Bahia de 65,2% e PINHEIRO *et al.* (2001) no Ceará, de 1,0%.

ADAMS *et al.* (1980), em pesquisa delineada para avaliar a resposta imune de cabras infectadas experimentalmente com o vírus da AEC, compararam os resultados obtidos pelas técnicas de IDGA e ELISA, verificando que após o aparecimento dos anticorpos anti-vírus da AEC, estes aumentavam rapidamente e que ambos os testes empregados puderam detectar os resultados positivos ao mesmo tempo. Embora tivesse existido boa correlação, entre os dois testes empregados, os pesquisadores consideraram o ELISA mais sensível.

Com a finalidade de estimar-se a sensibilidade e a especificidade do teste de ELISA, HECKERT *et al.* (1992), avaliaram os resultados de 511 amostras de soro sanguíneo de caprinos criados no Canadá. Os resultados obtidos com o teste de ELISA foram comparados com aqueles obtidos pela técnica de IDGA, além de compará-los com outros dois testes imunológicos ("imunoblot" e imunoperoxidase). Esses autores relataram haver concordância entre os testes estudados, nos quais o ELISA demonstrou ter sensibilidade de 98,3% e especificidade de 97,9%.

Um ELISA foi desenvolvido para detecção de anticorpos anti-vírus da AEC, e os resultados foram comparados com os obtidos com a técnica de IDGA. A sensibilidade e especificidade para o teste de ELISA foram, respectivamente, de 99,4% e 99,3% (SAMAN *et al.*, 1999).

No Brasil, CASTRO *et al.* (1999) desenvolveram um ELISA (lab-ELISA) para detectar anticorpos anti-vírus da AEC, e analisaram 339 amostras de soro de caprino comparando os resultados obtidos com aqueles determinados pela técnica de IDGA estabelecendo para o novo teste, os valores da sensibilidade e da especificidade, respectivamente iguais a 54,2% e 100%.

O teste de ELISA tem sido utilizado em programas de controle da Artrite-encefalite dos caprinos em alguns países, como o realizado no rebanho da Universidade da Noruega, permitindo a erradicação desta enfermidade num período de três anos (NORD *et al.*, 1998). Outros países também preferiram utilizar a técnica de ELISA em enquetes sorológicas, entre os quais destacaram-se a Nova Zelândia, Alemanha e Canadá (MACKENZIE *et al.*, 1987; KRIEG & PETERHANS, 1990; BÉLANGER & LEBOEUF, 1993).

Esta pesquisa teve como objetivo primordial comparar os resultados da determinação de anticorpos anti-vírus da AEC pelas técnicas de IDGA, ELISA e IFI, e contribuir para suas utilizações como técnicas auxiliares no diagnóstico clínico da AEC. Além do mais, foi intenção da pesquisa avaliar a sensibilidade e a especificidade do ELISA e da técnica de IFI para detecção de anticorpos virais, considerando como padrão a técnica da IDGA.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a comparação dos resultados de detecção de anticorpos anti-vírus da AEC pela técnicas de IDGA, ELISA e IFI foram colhidas 168 amostras de sangue de caprinos, por punção da veia jugular externa, utilizando-se Sistema Vacutainer®^a (BIRGEL, 1982). Os caprinos utilizados nesta pesquisa pertenciam a diversas raças e diferentes idades e eram provenientes de 17 propriedades localizadas em 14 municípios do Estado de São Paulo.

A pesquisa de anticorpos séricos anti-vírus 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^b. Durante a realização das provas foram seguidas as recomendações do fabricante.

Para a detecção de anticorpos anti-vírus da AEC pela técnica de ELISA, as amostras de soro foram submetidas à técnica usual recomendada para os testes imunoenzimáticos, segundo ARCHAMBAULT *et al.* (1988), utilizando o Chekit CAEV/MVV^c.

A pesquisa de anticorpos para o vírus da AEC, pela técnica de IFI, foi realizada segundo as recomendações de REISCHAK (2000), utilizando como antígeno amostras de vírus da AEC isoladas de caprinos provenientes do Estado do Rio Grande do Sul.

Os valores epidemiológicos relativos às sensibilidade e especificidade das técnicas de ELISA e de IFI comparados aos resultados obtidos na prova de IDGA, foram calculados segundo orientação proposta por SMITH (1991). O coeficiente *Kappa* (*k*), que indica a concordância entre os resultados obtidos nos testes, foi analisado segundo as preposições de PEREIRA (1995).

RESULTADOS

Os resultados gerais das reações sorológicas realizadas nas 168 amostras de soro pelas três técnicas avaliadas nesta pesquisa foram apresentados na Tabela 1. Nas Tabelas 2 e 3 foram apresentado os resultados positivos e negativos das reações de ELISA e IFI, respectivamente, frente aos obtidos pela prova de IDGA. Na Tabela 4 foram apresentados os resultados com valores epidemiológicos relativos das respostas obtidas para a detecção de anticorpos anti-vírus da AEC pela prova de IFI e ELISA, frente àqueles da prova de IDGA, considerada como teste de referência.

Tabela 1 - Resultados gerais obtidos pelas técnicas de Imunodifusão em gel de ágar (IDGA), Ensaio imunoenzimático (ELISA) e Imunofluorescência indireta (IFI), para a determinação de anticorpos anti-vírus da Artrite-encefalite dos caprinos, em 168 amostras de soro de caprinos. São Paulo, 2001.

Resultado	Técnicas		
	IDGA	ELISA	IF
Negativo	111 (66,1%)	93 (55,4%)	89 (53,0%)
Positivo	57 (33,9%)	75 (44,6%)	79 (47,0%)
Total	168 (100,0%)	168 (100,0%)	168 (100,0%)

Tabela 2 - Associação entre os resultados positivos e negativos obtidos pelas reações de Imunodifusão em gel de ágar (IDGA) e Ensaio imunoenzimático (ELISA), para a detecção de anticorpos anti-vírus da Artrite-encefalite dos caprinos. São Paulo, 2001.

ELISA	IDGA		
	Positivos	Negativos	Total
Positivos	57 (34,0%)	18 (10,6%)	75 (44,6%)
Negativos	0 (0,0%)	93 (55,4%)	93 (55,4%)
Total	57 (34,0%)	111 (66,0%)	168 (100,0%)

k = 0,778 (boa concordância)

Tabela 3 - Associação entre os resultados positivos e negativos obtidos pelas reações de Imunodifusão em gel de ágar (IDGA) e Imunofluorescência indireta (IFI), para a detecção de anticorpos anti-vírus da Artrite-encefalite dos caprinos. São Paulo, 2001.

IFI	IDGA		
	Positivos	Negativos	Total
Positivos	56 (33,3%)	23 (13,7%)	79 (47,0%)
Negativos	1 (0,6%)	88 (52,4%)	89 (53,0%)
Total	57 (33,9%)	111 (66,1%)	168 (100,0%)

k = 0,709 (boa concordância)

Tabela 4 - Valores epidemiológicos relativos dos resultados obtidos pelos testes ELISA e IFI, para a detecção de anticorpos anti-vírus da Artrite-encefalite dos caprinos em soros sanguíneos, considerando os resultados da prova IDGA como padrão de referência. São Paulo, Brasil, 2001.

Valores	ELISA/IDGA	%	IFI/IDGA	%
Sensibilidade relativa	57/57	100,0	56/57	98,2
Especificidade relativa	93/111	83,8	88/111	79,3

^aVacutainer®: tubos de vidro para colheita de sangue com aspiração pelo vácuo.

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

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

O coeficiente de *kappa* foi igual a $k=0,778$, quando se fez a comparação dos resultados do ELISA com os obtidos pela técnica de IDGA, e igual a $k=0,709$, quando comparamos o teste de IFI com a técnica de IDGA, indicando uma concordância boa.

DISCUSSÃO

A avaliação de testes sorológicos, para que eles tenham utilização rotineira incontestável, deve incluir os valores epidemiológicos de determinação da sensibilidade e especificidade, o que envolve uma comparação dos resultados desses testes, com o estado real de infecção do animal, cujo soro sanguíneo está sendo utilizado nas mencionadas determinações. Entretanto, o estado verdadeiro de infecção de um animal, raramente, pode ser conhecido, em especial em se tratando da Artrite-encefalite dos caprinos. Determinar uma infecção real pelo vírus causador dessa enfermidade, sempre foi considerada difícil em razão de sua complexa patogenia (portadores assintomáticos), além da técnica de isolamento do vírus, ser estimada como trabalhosa e difícil. Em tais situações tem sido recomendado comparar os resultados de provas novas e/ou modificações com os resultados de outro teste sorológico, definido como padrão de referência, pela competência a ele atribuída para identificar os animais infectados. Nesta pesquisa, definiram-se como animais positivos de referência, aqueles sororeagentes positivos aos antígenos do vírus da AEC pela técnica de IDGA, e os animais negativos de referência, aqueles negativos nesse exame. Isto permitiu que se estimasse os valores de sensibilidade e especificidade relativos, das outras duas provas imuno-sorológicas específicas para avaliar o estado de infecção dos caprinos: o ELISA e a IFI.

Os valores de sensibilidade e especificidade obtidos no presente estudo, para o teste de ELISA, concordaram com os relatados por HECKERT *et al.* (1992), que obtiveram 98,3% e 97,9%, respectivamente, para sensibilidade e especificidade. Estes valores epidemiológicos também foram semelhantes aos demonstrados por SAMAN *et al.* (1999), que comparando a detecção de anticorpos anti-vírus da AEC por ELISA e pela IDGA, obtiveram valores de sensibilidade de 99,4% e de especificidade de 99,3%. Entretanto, ADAMS *et al.* (1980), avaliaram essas características para a IDGA e o ELISA, afirmando, paradoxalmente, que os resultados eram semelhantes, mas consideraram o ELISA mais sensível.

Os resultados de sensibilidade e especificidade do ELISA, tendo como parâmetro de comparação a IDGA, não concordaram com os referidos por CASTRO *et al.* (1999), que ao avaliarem 339 amostras de soro de

caprinos destacaram menor sensibilidade (54,2% contra 100,0%) e maior especificidade (100,0% contra 83,78%).

Os valores de sensibilidade para a prova de IFI (98,25%) e de especificidade (79,28%), não puderam ser comparados com os resultados de outros pesquisadores, pois na literatura compulsada não se encontraram citações que permitissem tal discussão. Mas não houve dúvidas para afirmar-se que os resultados obtidos pelo ELISA e pelo IFI se equivaleram.

Os resultados demonstraram a semelhança de sensibilidade e especificidade das três provas avaliadas – IDGA, ELISA e IFI; o que permitiu afirmar-se suas utilizações na complementação do exame clínico, confirmando as recomendações de REISCHAK (2000). Da mesma forma pode-se recomendar o uso das mencionadas provas para realização de inquérito clínico-epidemiológico da infecção pelo vírus da AEC, concordando com as realizações de inúmeros pesquisadores (IDGA – CRAWFORD & ADAMS, 1981; STRAUB, 1983; AGRIMI *et al.*, 1985; NAZARA *et al.*, 1985; DAWSON & WILESMITH, 1985; ADAIR, 1986; PERRIN & POLACK, 1987; CUNHA & NASCIMENTO, 1995; SARAIVA NETO *et al.*, 1995; FERNANDES, 1997; MELO & FRANKE, 1997; RAMALHO, 2000) (ELISA – HECKERT *et al.*, 1992; MACKENZIE *et al.*, 1987; KRIEG & PETERHANS, 1990; BÉLANGER & LEBOEUF, 1993; NORD *et al.*, 1998; SAMAN *et al.*, 1999).

CONCLUSÃO

Tanto o ELISA como a IFI, utilizadas para a detecção de anticorpos anti-vírus da AEC, demonstraram concordância nos resultados que estimaram a sensibilidade, especificidade e concordância, quando contrastadas com a prova de IDGA, considerada como teste de referência. As três técnicas sor imunológicas avaliadas podem ser recomendadas e utilizadas como métodos complementares para confirmação do diagnóstico clínico da Artrite-encefalite dos caprinos; bem como serem utilizadas em levantamentos clínico-epidemiológicos para determinação das prevalências da doença e/ou da infecção determinada pelo vírus da AEC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAIR, B.M. Serological surveillance for maedi-visna virus and caprine arthritis-encephalitis virus in Northern Ireland. *Vet. Rec.*, v.118, n.15, p.422-423, 1986.
- ADAMS, D.S; CRAWFORD, T.B.; BANKS, K.L.; MCGUIRE, T.C.; PERRYMAN, L.E. Immune responses of goats persistently infected with caprine arthritis-encephalitis virus. *Infect. Immun.*, v.28, n.2, p.421-427, 1980.
- AGRIMI, P.; LEGROTTAGLIE, R.; TOLARI, F.; RENZONI, G.; LETO, A.; ORLANDO, F. Isolamento di un virus riferibile a CAEV

- (caprine arthritis-encephalitis virus) da capre di razza Saanen con sintomi di artrite ed encefalite. *Atti Soc. Ital. Sci. Vet.*, v.39, n.2, p.694-696, 1985.
- 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.
- BÉLANGER, D. & LEBOEUF, A. CAE virus seroprevalence in a mixed goat herd. *Vet. Rec.*, v.133, n.13, p.328, 1993.
- BIRGEL, E.H. Leucose linfática e enzoótica dos bovinos adultos, aspectos clínicos e diagnóstico. In: BIRGEL, E.H. & BENESI, F.J. *Patologia Clínica Veterinária*. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p.242-260.
- CASTRO, R.S.; LEITE, R.C.; RESENDE, M.; GOUVEIA, A.M.G. A Labelled avidin-biotin ELISA to detect antibodies to Caprine Arthritis-encephalitis virus in goat's sera. *Vet. Res. Commun.*, v.23, p.515-522, 1999.
- 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. Chronic arthritis in goats caused by a retrovirus. *Science*, v.207, n.29, p.997-999, 1980.
- CUNHA, R.G. & NASCIMENTO, M.D. Ocorrência de anticorpos para o vírus da Artrite Encefalite Caprina em soros de caprinos do Estado de Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v.17, n.2, p.72-75, 1995.
- CUTLIP, R.C.; JACKSON, T.A.; LAIRD, G.A. Immunodiffusion test for Ovine Progressive Pneumonia. *Am. J. Vet. Res.*, v.38, n.7, p.1081-1084, 1977.
- DAWSON, M. & WILESMITH, J.W. Serological survey of lentivirus (maedi visna/caprine arthritis-encephalitis) infection in British goat herds. *Vet. Rec.*, v.117, n.4, p.86-89, 1985.
- FERNANDES, M.A. *Artrite encefalite caprina. Contribuição para o estudo epidemiológico em rebanhos leiteiros criados no Estado de São Paulo*. São Paulo, 1997. 83p. [Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo].
- HECKERT, R.A.; McNAB, W.B.; RICHARDSON, S.M.; BRISCOE, M.R. Evaluation of an Enzyme-linked Immunosorbent Assay for the detection of antibodies to Caprine Arthritis-Encephalitis Virus in goat serum. *Can. J. Vet. Res.*, v.56, n.3, p.237-241, 1992.
- KRIEG, A. & PETERHANS, E. Die Caprine Arthritis-Encephalitis in der Schweiz: epidemiologische und klinische Untersuchungen. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, v.132, n.7, p.345-352, 1990.
- LERONDELLE, C.; FLEURY, C.; VIALARD, J. Le glande 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.
- MACKENZIE, R.W.; OLIVER, R.E.; ROONEY, J.P.; KAGEI, H. A successful attempt to raise goat kids free of infection with caprine arthritis encephalitis virus in an endemically infected goat herd. *N. Z. Vet. J.*, v.35, n.11, p.184-186, 1987.
- NAZARA, S.J.; TRIGO, F.J.; SUBERBIE, E.; MADRIGAL, V. Estudio serologico de la artritis-encefalitis caprina en México. *Téc. Pecu. Méx.*, n.48, p.99-101, 1985.
- NORD, K.; HOLSTAD, G.; EIK, L.O.; GRONSTOL, H. Control of Caprine Arthritis-Encephalitis virus and *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in a Norwegian goat herd. *Acta Vet. Scand.*, v.39, n.1, p.109-117, 1998.
- PEREIRA, M.G. *Epidemiologia – Teoria e Prática*. Ed. Guanabara Koogan, 583p. 1995.
- PERRIN, G. & POLACK, B. L'arthrite encéphalite caprine (AEC). Etude sérologique, anatomo-clinique – Procédures d'assainissement. *Bull. Acad. Vet. Fr.*, v.60, n. 2, p.125-136, 1987.
- 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. *Ciênc. Rural*, v.31, n.3, p.449-454, 2001.
- RAMALHO, E.J. *Artrite encefalite caprina – CAE: Prevalência de anticorpos séricos em caprinos no Estado da Bahia*. São Paulo, 2000. 109p. [Tese (Doutorado Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo].
- REISCHAK, D. *Lentivírus de Pequenos Ruminantes: Imunofluorescência utilizando isolados brasileiros para diagnóstico sorológico de infecção em ovinos e caprinos*. Porto Alegre, 2000. 132p. [Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul].
- SAMAN, E.; EYNDE, G.; LUJAN, L.; EXTRAMIANA, B.; HARKISS, G.; TOLARI, F.; GONZÁLEZ, L.; AMORENA, B.; WATT, N.; BADIOLA, J. A new sensitive serological assay for detection of lentivirus infections in small ruminants. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, v.6, n.5, p.734-740, 1999.
- SARAIVA NETO, A.O.; CASTRO, R.S.; BIRGEL, E.H.; NASCIMENTO, S.A. Estudo soro-epidemiológico da artrite-encefalite caprina em Pernambuco. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.15, n.4, p.121-124, 1995.
- 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, R.D. *Veterinary Clinical Epidemiology*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1991.
- STRAUB, O.C. Vorkommen der virusbedingten Ziegen (caprinen)-Arthritis-Enzephalitis (CAE) in der Bundesrepublik Deutschland. *Tierärztliche Umschau*, v.38, n.12, p.896-902, 1983.
- ZANONI, R. "Lentiviruses: A Brief Review". *Etudes et Syntheses de l'EMVT*, n.42, p.1-8, 1993.

Recebido em 8/5/02

Aceito em 12/10/02