

DADOS SOROLÓGICOS DA ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (BR) E AVALIAÇÃO DO USO DO ÍNDICE CLÍNICO COMO FERRAMENTA DE DIAGNÓSTICO

SEROLOGICAL DATA ON CAPRINE ARTHRITIS-ENCEPHALITIS IN RIO DE JANEIRO, BRAZIL AND EVALUATION OF THE CLINICAL INDEX AS DIAGNOSTIC TOOL

Madelayne Cortez Moreira¹, Walter Martin Roland Oelemann¹ & Walter Lilenbaum²

RESUMO – Com a finalidade de detectar a presença de anticorpos específicos contra o vírus da Artrite-encefalite caprina (CAE), foram analisadas 562 amostras de soro de caprinos adultos provenientes de sete propriedades de exploração leiteira do Estado do Rio de Janeiro, pela técnica de imunodifusão em gel de agarose (AGID). Paralelamente, realizou-se exame de medição do índice clínico (IC) em 48 desses animais. Setenta e nove (14,1%) das amostras testadas foram reativas. Todos os rebanhos testados apresentaram algum animal reativo. Quando comparado à AGID, o exame de IC mostrou-se pouco sensível e pouco específico e não deve ser recomendado como ferramenta de diagnóstico para a referida doença. Conclui-se que é necessário estabelecer programas amplos de diagnóstico e controle da CAE em nosso meio, a fim de incrementar a produtividade de nossos rebanhos de exploração leiteira.

PALAVRAS-CHAVE – CAE, Artrite, AGID, caprinos.

ABSTRACT – With the purpose of detecting the presence of anti-caprine arthritis-encephalitis (CAE) virus antibodies, 562 goat serum samples were tested by agarose immunodiffusion. Clinical index was also measured on 48 animals. Seventy-nine (14.1%) samples were reactive and all herds had at least one reactive animal. When compared to AGID, clinical index showed to be not sensitive and not specific enough to be recommended as a diagnostic tool for that disease. It is suggested a wide diagnostic and control program to be implemented in order to increase productivity of goat herds.

KEY WORDS – CAE, Arthritis, AGID, Goat.

INTRODUÇÃO – A caprinocultura comercial constitui-se numa importante atividade econômica, apresentando intenso crescimento nos últimos anos. No entanto, apesar do elevado efeito caprino brasileiro, os níveis de produtividade dos rebanhos nacionais são ainda bastante inferiores aos verificados nos países mais desenvolvidos (Cordeiro 1998). No Estado do Rio de Janeiro 83,3% das propriedades rurais com caprinos dedicam-se exclusivamente a caprinocultura de exploração leiteira, sendo 31,25% no sistema intensivo e 62,50% no semi-intensivo. O predomínio é de pequenas propriedades com criação de animais de aptidão leiteira, majoritariamente da raça Saanen, confinados em estábulos suspensos e ripados (Souza et al., 2002). A Artrite-encefalite caprina (CAE) é uma doença debilitante progressiva, para a qual não há tratamento específico e que determina redução da produção leiteira e perda econômica para o criador. É determinada por um vírus do gênero *Lentivirus*, família *Retroviridae*. Acomete animais de ambos os sexos, diversas raças e idades. No entanto, observa-se uma diferença na forma clínica que acomete os animais de diferentes idades, sendo a forma encefalítica a mais freqüente em adultos (Callado et al., 2001). A forma artrítica é caracterizada por sinovite e artrite crônica progressiva, havendo aumento na consistência e tamanho das articulações, acompanhada de claudicação. Afeta principalmente as articulações carpo-metacarpianas podendo, em casos crônicos, ocorrer calcificação da articulação acometida. A forma encefalítica apresenta sintomas como depressão, cegueira, nistagmo, opistótono, andar em

círculos, deficiência de nervos faciais e disfagia. Ataxia, hipertonia, parestia e paralisia progressiva podem ser observadas (Norman e Smith, 1983; Zink et al., 1990). A via de transmissão mais importante é a oral, quando o cabrito se contamina pela ingestão de colostro ou leite de cabras infectadas (Adams et al., 1983; Callado et al., 2001). Também pode ocorrer transmissão horizontal, vertical, venérea ou pelo uso de materiais não esterilizados, durante a tatuagem e aplicação de brincos (Garcia, 1993; Phelps e Smith, 1993; Travassos et al., 1999). Esta doença é cosmopolita e ocorre de forma endêmica, sendo mais freqüente nos países onde a caprinocultura leiteira é mais automatizada e o aleitamento coletivo uma constante (Callado et al., 2001). No Brasil, a doença foi relatada pela primeira vez no Rio Grande do Sul, por Moojen e colaboradores, em 1986. Esses autores identificaram os anticorpos antivirais pela técnica de imunodifusão em gel de agarose (AGID). Em 1993, Hötzel et al. isolaram pela primeira vez o CAE no Brasil, a partir da membrana sinovial de um animal submetido à eutanásia; esse animal apresentava sintomas de artrite e anticorpos detectados pela AGID. Em 1994, Assis e Gouveia demonstraram a ocorrência de CAE nos estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais, Bahia e Ceará, por meio de testes sorológicos, usando a técnica de microimunodifusão em lâmina. Evidências clínicas e sorológicas da doença também foram relatadas em outros estados, tais como São Paulo (Garcia et al., 1992; Fernandes e d'Angelino, 1997), Pernambuco (Saraiva Neto et al., 1995), Paraíba (Souza e Alves, 1999) e Bahia (Almeida et al., 2001) por meio de

¹ Médica-veterinária do Departamento de Imunologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) – Av. Brigadeiro Trompovsky s/n, Cidade Universitária, 2941-590, Rio de Janeiro, RJ.

² Médicos-veterinários do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal Fluminense, (UFF) – Rua Prof. Hernani Melo, 101, Cep 24210-130, Niterói – RJ. mipwalt@vm.uff.br

estudos que utilizaram a AGID como teste diagnóstico. No Rio de Janeiro, trabalho pioneiro foi realizado em 1995 (Cunha e Nascimento, 1995). Nesse estudo os autores testaram 242 amostras de soros de caprinos provenientes de 17 propriedades em 10 municípios do Estado, através da AGID com antígeno comercial. Os autores relataram a ocorrência de 21,07% de reatividade, distribuída por todos os municípios testados. Foi ainda enfatizado, através do teste de amostras de coleção, que a doença já existia no Estado há mais de uma década e desta forma recomendou-se a adoção de medidas de controle por parte das autoridades sanitárias. O diagnóstico clínico da doença é baseado no histórico e nos sinais clínicos apresentados pelo animal, sendo os mais frequentes o aumento do diâmetro articular, claudicação e emagrecimento, apesar do apetite normal (Pinheiro et al., 2000). O Índice Clínico (IC) foi descrito por Monicat (1987) e baseia-se na diferença entre o diâmetro da articulação carpo-metacarpiana e o diâmetro do metacarpo, sendo o animal considerado positivo para CAE quando maior ou igual a 7,0cm. No entanto, apesar de auxiliar na suspeita clínica da doença, apresenta problemas de especificidade, vez que outras afecções, como a infecção por *Mycoplasma spp.*, também podem causar artrite com aumento do diâmetro da articulação (Garcia, 1993). A profilaxia para a CAE é muito importante, devido à ausência de tratamento efetivo contra o vírus. É necessário que se realize acompanhamento sorológico do rebanho e abate ou isolamento dos animais sororeativos. Desta forma, os animais devem ser testados após os 90 dias de vida por provas sorológicas, principalmente a AGID, conforme recomendação da OIE (*Office International des Epizooties*). Animais com resultados falso-negativos nas reações sorológicas podem ser confirmados por provas de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) para detecção do DNA pró-viral (Rimstad et al., 1993). A separação dos cabritos desde o nascimento, sua alimentação com colostro tratado a 56°C por uma hora e posteriormente leite pasteurizado são medidas frequentemente preconizadas (Phelps e Smith, 1993). O presente estudo teve por objetivo contribuir para o conhecimento da ocorrência da CAE em rebanhos caprinos no Estado do Rio de Janeiro e avaliar o uso do teste de campo da determinação do Índice Clínico (IC) como ferramenta para diagnóstico presuntivo ou definitivo da enfermidade, comparando-o com o teste padrão da AGID.

MATERIALE MÉTODOS – *Amostras* – Foram analisados 562 soros de caprinos de aptidão leiteira de ambos os sexos com idade superior a oito meses. Após adequada contenção dos animais, a coleta de sangue foi realizada por punção da veia jugular com seringas e agulhas próprias. Foram coletados cinco mililitros de sangue de cada animal, sendo este sangue recolhido em tubos sem anticoagulante. Esses tubos foram identificados nas propriedades e as amostras permaneceram de duas a seis horas à temperatura ambiente. Após centrifugação, os soros foram separados e congelados a -20°C, até o momento do teste. *Propriedades* – Os animais eram provenientes de sete propriedades de exploração leiteira distribuídas pelos municípios de Nova Friburgo, Bom Jardim, Teresópolis, Resende e Valença, no Estado do Rio de Janeiro. Os critérios para a escolha dos rebanhos foram: produtores cadastrados na Associação dos Criadores de Caprinos do Estado do Rio de Janeiro (CAPRI-RIO) e Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER-RJ). Procurou-se ainda localizar criatórios situados nas regiões do Estado em que a caprinocultura é mais significativa como atividade econômica, além do interesse em participação na pesquisa por parte do produtor e regularidade nas técnicas de manejo aplicadas ao rebanho, bem como na confiabilidade dos registros dos animais. *Índice Clínico* – Paralelamente à coleta de sangue, realizou-se a determinação do índice clínico (IC) segundo descrição de Monicat (1987). Foram avaliados 48 animais randomicamente escolhidos, calculando-se a diferença entre a articulação carpo-metacarpiana e o diâmetro do metacarpo. Considerou-se como positivos valores de IC maiores ou iguais a 7,0cm. *Imunodifusão em gel de*

Agarose (AGID) – Utilizou-se o teste comercial de AGID-CAE P₂₈ produzido pelo Instituto POURQUIER (França). Os testes foram realizados de acordo com as instruções do fabricante. Antes de iniciar a confecção da prova, preparou-se a agarose e reconstituiu-se o antígeno e o soro de referência, todos fornecidos pelo fabricante. O antígeno contido nessa teste é a proteína P₂₈ do capsídeo viral do CAEV. Resumidamente, o gel de agarose fornecido pelo fabricante foi fundido em forno microondas, após a completa solidificação foram feitos os orifícios no gel, utilizando-se um furador de metal de sete furos, sendo um central e seis periféricos, de tamanhos iguais e equidistantes entre si e os cilindros de agarose foram removidos por aspiração. Depositou-se 100µL do antígeno no orifício central, 100µL das amostras nos orifícios ímpares e 100µL dos padrões positivos nos orifícios pares. As placas foram incubadas em câmara úmida entre 18 e 23°C, as leituras foram realizadas após 72 e 96 horas, considerando-se o resultado final somente após a leitura com 96 horas completas. Foram julgados reativos os casos onde se formava uma linha de precipitação em qualquer intensidade entre o antígeno e o soro suspeito ao final das 96 horas. Assim estabeleceu-se para estes soros como critério: (+) Reativo e (-) Não Reativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO – Apesar do importante impacto econômico dessa atividade, existem poucos estudos sobre as patologias dos caprinos e a sua ocorrência em nosso país, não tem sido investigada com a sistematização necessária. Observa-se grande investimento em termos de composição racial e qualidade genética do rebanho caprino do Estado do Rio de Janeiro, que se apresenta com grande potencial na produção leiteira, no entanto, a carência de estudos e de programas de controle das doenças desses animais reduz a produtividade dos rebanhos e dificulta o aproveitamento de todo seu potencial. No presente estudo, das 562 amostras testadas, 79 (14,1%) mostraram-se reativas à AGID, o que é alarmante e requer a adoção de medidas de controle da doença, a fim de reduzir sua ocorrência e aumentar a produtividade de nossos rebanhos. Usando o método de análise sorológica de AGID, Saraiva Neto et al. (1995) acusaram a ocorrência em Pernambuco de uma taxa de 17,6% de sororeatividade para CAE em 397 animais. Na Paraíba, das 194 amostras analisadas por Souza e Alves (1999) 34,1% foram positivas. Na Bahia soros de 1605 caprinos foram testados e 13,4% apresentaram positividade (Almeida et al., 2001). Em São Paulo 2065 animais foram avaliados, tendo sido verificado 29,8% de soropositivos (Fernandes e D'Angelino, 1997). O diagnóstico sorológico da infecção por CAE foi também relatado no Rio Grande do Sul (Moojen et al., 1986), Pará (Ramos et al., 1996) e Piauí (Pinheiro et al., 1996). No entanto, quando comparada a estudos anteriores realizados no Rio de Janeiro, verifica-se decréscimo da ocorrência de sororeatividade. Assis e Gouveia (1994) e Cunha e Nascimento (1995) testaram soros de caprinos pela AGID, observando índices de sororeatividade de 19,7% e 21,1%, respectivamente. A diminuição da taxa de ocorrência da CAE observada em nosso estudo pode ser o resultado de maior conscientização dos caprinocultores e veterinários em relação às consequências econômicas da doença ou de melhor padronização de métodos de diagnóstico, que se tornaram mais acurados e confiáveis. Apesar de ter sido observada redução nos índices totais de sororeatividade, verificou-se que a doença continua bastante disseminada no rebanho caprino do Rio de Janeiro. Todos os rebanhos testados apresentavam algum animal sororeativo, não tendo sido possível identificar rebanho completamente livre da infecção. Esse achado dificulta a reposição de matrizes por parte dos criadores, que necessitam realizar testes individuais a cada aquisição de animais. Nas propriedades localizadas nos municípios de Nova Friburgo (4,3%) e Teresópolis (5,7%) os índices de reatividade verificados (média de 4,6%) foram significativamente inferiores ($p < 0,001$) aos encontrados nos outros municípios (média

de 19,2%), como em Bom Jardim (18,7%), Resende (20,4%) e Valença (17,3%), conforme Tabela 1.

Tabela 1: Análise comparativa dos soros caprinos diferentes municípios do Estado do Rio de Janeiro pelo teste de AGID para detecção de vírus da CAE

Município	Nº testados	Reativos AGID	%
Nova Friburgo	162	07	4,3
Teresópolis	35	02	5,7
Bom Jardim	123	23	18,7
Resende	167	34	20,4
Valença	75	13	17,3
Total	562	79	14,1

Calculando-se a força da associação entre municípios e número de animais reativos a partir da razão de probabilidades, observou-se que animais de Bom Jardim, Resende ou Valença apresentam 4,20 vezes mais chances de serem sororeativos para CAE em relação aos animais de Teresópolis ou Nova Friburgo. Uma provável explicação para tal achado seria a maior organização e tecnificação dos criadores dos primeiros municípios, que tradicionalmente foram os pioneiros na exploração comercial de caprinos de aptidão leiteira nesse estado. Os reduzidos índices observados nesses municípios, que representam importantes centros de criação no estado, poderiam justificar a redução de ocorrência verificada, quando comparada com estudos anteriores. Os menores índices encontrados nesses rebanhos podem ainda ser considerados como estímulo ao controle da doença em outras regiões. No que se refere aos animais dos quais se avaliou o índice clínico, 22 apresentaram amostra reativa à AGID e 26, amostra não reativa. Dos 22 animais sororeativos, somente três apresentaram IC > 7,9cm e dos 26 animais soronegativos, quatro apresentaram IC > 7,0cm (figura 1). A análise estatística mostrou que não foi significativa o nível de concordância entre os dois testes, de acordo com o método não-paramétrico do qui-quadrado ($\chi^2=17,4$; $P<0,05$). Esse teste demonstrou ser inadequado para o diagnóstico final ou mesmo presuntivo da doença. Apesar da facilidade de execução e baixo custo, a baixa correlação verificada entre esse teste e os resultados de AGID demonstra que o IC como método diagnóstico não deve ser utilizado. A ocorrência de

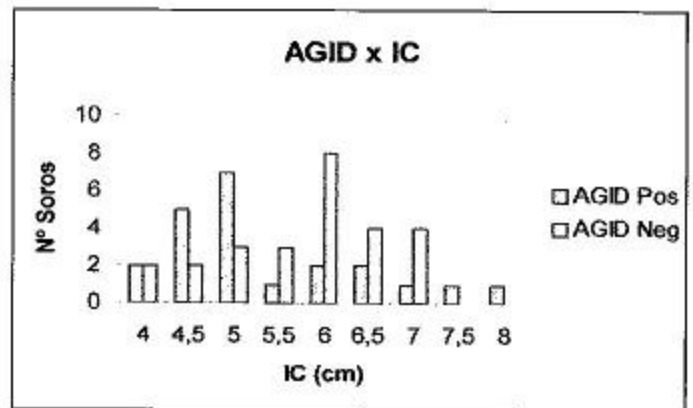


Figura 1. Distribuição IC versus AGID de acordo com as respectivas faixas de medição do IC

4/26 (15,4%) de animais soronegativos com IC > 7,0cm deixa claro a inespecificidade do método e a ocorrência de 19/22 animais sororeativos com IC < 7,0cm revela a baixa sensibilidade como método presuntivo de diagnóstico. Esses achados estão de acordo com Garcia (1993), que afirmou que o IC isoladamente não é um critério satisfatório para o diagnóstico da CAE. Desta forma, o uso deste método como ferramenta diagnóstica da CAE deve ser desestimulado.

CONCLUSÕES - Há muito ainda que se investigar sobre a infecção por CAE, buscando respostas para questões importantes sobre suas características biológicas e forma de interação com o hospedeiro. No entanto, a realização de testes rotineiros de diagnóstico nos rebanhos e nos animais introduzidos, constitui-se em ferramenta indispensável para o controle da doença. Assim é necessário estabelecer programas amplos de diagnóstico e controle da CAE em nosso meio, a fim de incrementar a produtividade de nossos rebanhos de exploração leiteira.

AGRADECIMENTOS - Os autores agradecem aos médicos-veterinários Paulo Cordeiro e Carlos Pizzarro, bem como aos acadêmicos Yuri N. P. Gomes e Renato G. Vargas e ao Laboratório Pourquier (França). Este trabalho contou com apoio financeiro da Capes, Faperj e CNPq.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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 of Veterinary Research*, v. 44, p. 1670-75, 1983.
- ALMEIDA, M.G.A.R., ANUNCIACÃO, A.V.M., FIGUEIREDO, A., MARTINEZ, T. C. N., LABORDA, S. S. Serologies data of appearance and distributin of the caprine arthritis-encephalitis in State of Bahia, Brazil. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 1, p. 78-83, 2001.
- ASSIS, A. P. M. V., GOUVEIA, A. M. G. Evidência sorológica de Lentivírus (Maedi-Visna/Artrite-encefalite caprina) em rebanhos nos Estados de MG, RJ, BA e CE. In: Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, p.104, 1994.
- CALLADO, A.K.C., CASTRO, R. S., TEIXEIRA, M. F. S. Lentiviruses of small ruminants (CAEV e Maedi-Visna): a review and perspectives. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.21, n.3, p.87-97, 2001.
- CORDEIRO, P. C. O desenvolvimento econômico da caprinocultura leiteira. *Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária*, v.21, n.1, p.38-40, 1998.
- CUNHA, R. G., NASCIMENTO, M. D. Antibodies occurrence to caprine arthritis-encephalitis virus in goat sera from Riód e Janeiro State (Brazil). *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.17, n.2, p.72-75, 1995.
- EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL - RJ. Produção animal 1997. Niterói, RJ. (Relatório), 1998.
- FERNANDES, M. A., D'ANGELINO, J. L. Artrite encefalite caprina: contribuição para o estudo epidemiológico em rebanhos leiteiros criados no Estado de São Paulo. Banco de dados bibliográficos da USP - *Dedalus*, 83 p.1997.
- GARCIA, M., GALHADO, M., ARAUJO, W. P., D'ANGELINO, J. L. BASTOS, P. S., ROSSINI, A. J. Caprine arthritis-encephalitis (CAE). Occurrence of positive sera in goats raised in Brazil. *Tropical Animal Health Production*, v.24, p.164, 1992.
- GARCIA, M. Artrite-encefalite caprina: uma nova doença no Brasil. *A Hora Veterinária*, v. 76, p.57-59, 1993.
- HÖTZEL, I., BASTOS, E. S., RAVAZZOLO, A. P., MOOJEN, V. Caprine arthritis-encephalitis virus: isolation and identification in Rio Grande do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.26, p.1175-79, 1993.
- MONICAT, F. Facteurs de risque. In: Le Rende-Vous de L'Ecopathologie, Lyon, France. Centre Régional d'ecopathologie multiespèces Rhône-Alpes. P.1-11. 1987.
- MOOJEN, V., SOARES, H. C., RAVAZZOLO, A. P., PIZZOL, M., GOMES, M. Evidência de infecção pelo lentivírus (maedi/visna - artrite&). Sistemas de produção na caprinocultura do Estado do Rio de Janeiro. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.54, n.2, p.221.22, 2002.
- TRAVASSOS, C. E. P. F., SILVA, A. G., PERRING, G. Detection of caprine arthritis-encephalitis virus as cell-free virus in semen from seropositive bucks. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, v.6, n.1, p.36-39, 1999.
- ZINK, M. C., YAGER, J. A., MYERS, J. D. Pathogenesis of caprine arthritis encephalitis virus. Cellular localization of viral transcripts in tissues of infected goats. *American Journal of Pathology*, v.136, p1843-854, 1990.