

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

SOROPREVALÊNCIA DA PNEUMONIA
PROGRESSIVA OVINA (MAEDI-VISNA) NA REGIÃO
DE BOTUCATU – SP

ERIC PIVARI ROSA

BOTUCATU - SP
JULHO 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

SOROPREVALÊNCIA DA PNEUMONIA
PROGRESSIVA OVINA (MAEDI-VISNA) NA REGIÃO
DE BOTUCATU – SP

ERIC PIVARI ROSA

Dissertação apresentada junto ao Programa de
Pós-Graduação em Medicina Veterinária para
obtenção do título de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Rogério Martins Amorim

BOTUCATU -SP
JULHO 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Rosa, Eric Pivari.

Soroprevalência da pneumonia progressiva ovina (Maedi-Visna) na região de Botucatu - SP / Eric Pivari Rosa. – Botucatu : [63f.], 2007

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, 2007.

Orientadora: Rogério Martins Amorim

Assunto CAPES: 50503030

1. Ovino - Doenças - Botucatu (SP) 2. Ovino - Criação

CDD 636.30896

Palavras-chave: IDGA; Maedi-Visna; Ovinos; Pneumonia Progressiva Ovina; Soroprevalência.

Nome do autor: Eric Pivari Rosa

**Título: SOROPREVALÊNCIA DA PNEUMONIA
PROGRESSIVA OVINA (MAEDI-VISNA) NA
REGIÃO DE BOTUCATU – SP**

Data: 12 de Julho de 2007

BANCA EXAMINADORA

Prof. Ass. Dr. Rogério Martins Amorim

Prof. Ass. Dr. Márcio Garcia Ribeiro

Prof. Ass. Dr. Júlio Augusto Naylor Lisboa

A Deborah e Lucas, pelo amor, dedicação, carinho e amizade.

Verdadeiros presentes de Deus em minha vida.

Aos meus pais, Celso e Ana, pelo amor, compreensão e por sempre acreditarem em mim.

A minhas irmãs, Celine, Simone e Thaïs, por nosso amor, carinho e respeito incondicionais.

*Aos meus queridos sobrinhos, Pedro, Breno,
Bernardo e João.*

Ao meu sogro e sogra, Jorge e Neida, minha segunda família, pelo amor e amizade.

*Aos cunhados, Rodrigo, Thiago, Roberto, Marcelo e Erick , à
cunhada Sabrina e ao cumpadre João, pela amizade e respeito.*

Aos amigos, Marcel, Mirayr e Thiago, pelos momentos juntos!

A todos vocês, humildemente, dedico esta conquista!

Ao meu orientador, Professor Rogério Martins Amorim, pelas orientações não só para a realização deste trabalho, mas para a vida pessoal e profissional. Por sua amizade e compreensão em todos os momentos.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, pela oportunidade e apoio ao meu engrandecimento profissional e sobretudo pessoal .

Aos Professores da Clínica de Grandes Animais, Calderon, Simone, Alexandre e Márcio, pelos ensinamentos, amizade e acolhida durante minha estada nesta casa.

Aos funcionários, residentes e estagiários da Clínica de Grandes Animais da UNESP - Botucatu, pela amizade, compreensão e ajuda para a realização deste trabalho.

Aos amigos, José Filho, Julio, Letícia, Danilo, Priscila e Raffaella, pela amizade e companheirismo.

À funcionária do Laboratório de Planejamento Animal, Tânia M. Martins, pela ajuda, atenção e ensinamentos.

Aos funcionários da secretaria do Departamento de Clínica Veterinária e da Pós-Graduação, Marlene, Denise, Maria e José Roberto.

Aos funcionários da Seção de Atividades Auxiliares (Área de Fotografia), Silvio G. Manoel, Silvio G. S. Jr. e Daniel C. Ornelas, pela atenção e ajuda nas ilustrações deste trabalho.

Ao Professor Paulo César Gonçalves, e a todos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça, pela compreensão e apoio incondicionais para a conclusão deste trabalho.

Aos proprietários e funcionários das fazendas onde foi realizada parte desta pesquisa

Aos animais que literalmente deram seu sangue para que este trabalho pudesse ser realizado

A todos que direta ou indiretamente ajudaram na realização deste trabalho

A Deus, sempre fiel, pela vida!

Tabela 1 - Prevalência de ovinos soropositivos para Maedi-Visna no teste de IDGA em alguns estados Brasileiros.....	9
---	---

Tabela 2 – Detecção sorológica de Maedi-Visna em ovinos por Estado e respectivos autores.....	10
---	----

Tabela 3 – Prevalência da infecção por Maedi-Visna em países da Europa e América do Norte, pela técnica de IDGA.....	11
--	----

Figura 1 – Disposição dos soros e antígeno na reação de imunodifusão em gel de agar para o diagnóstico de Maedi-Visna em ovinos.....18

Figura 2 – Soro controle positivo ovino disposto nos poços 1, 3 e 5 para o diagnóstico de MV em ovinos.....19

CAEV.....	Artrite – encefalite caprina a vírus
ELISA.....	Enzyme linked immunosorbent assay
IDGA.....	Imunodifusão em gel de agar
LVPR.....	Lentivirose de Pequenos Ruminantes
MAPA.....	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MV.....	Maedi-Visna
OPP.....	Pneumonia progressiva ovina
OIE.....	Organização Internacional para Controle de Epizootias
PCR.....	Reação em cadeia pela polimerase
PNSCO.....	Programa Nacional de Sanidade Caprina e Ovina
rpm.....	Rotações por minuto

SUMÁRIO

BANCA EXAMINADORA.....	ii
DEDICATÓRIA.....	iii
AGRADECIMENTOS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
ABREVIATURAS.....	xii
RESUMO.....	xvi
ABSTRACT.....	xviii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3. OBJETIVOS.....	13
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
4.1 Animais.....	16
4.2 Questionário.....	16
4.3 Tamanho amostral.....	16
4.4 Colheita de sangue.....	17
4.5 Exames laboratoriais.....	17
4.6 Análise estatística.....	19
5. RESULTADOS.....	20
6. DISCUSSÃO.....	22
7. CONCLUSÃO.....	26
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
9. TRABALHO CIENTÍFICO.....	35

ROSA, E. P. *Soroprevalência da Pneumonia Progressiva Ovina (Maedi-Visna) na região de Botucatu – SP.* Botucatu, 2007. 53p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Área de Concentração: Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

O presente estudo visou determinar a soroprevalência da pneumonia progressiva ovina na região de Botucatu mediante prova de imunodifusão em gel de agar (IDGA). Foram avaliadas 400 amostras de soro sangüíneo de ovinos de oito propriedades de corte, com criação em sistema semi-intensivo, de diferentes municípios da região. Nenhuma das amostras de soro foi reagente na prova de IDGA. Com base nos resultados obtidos, foi verificada uma discordância com estudos realizados em outros estados brasileiros, nos quais a prevalência da doença vem aumentando progressivamente.

Palavras-chave: Ovinos; Soroprevalência; Maedi-Visna; Pneumonia Progressiva Ovina; IDGA.

ROSA, E. P. *Seroprevalence of the ovine progressive pneumonia (OPP), in Botucatu – SP.* Botucatu, 2007. 53p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Área de Concentração: Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

The present study aimed to verify the prevalence of the ovine progressive pneumonia in Botucatu region by means of imunodiffusion test in agar-gel. Serum samples of 400 sheep from eight specific farms for meat, with type of semi-intensive breeding of different areas. All the samples tested were negative to Maedi-Visna. With base in the obtained results, is verified a discordance when compared with other studies of other Brazilians states, where the prevalence of the disease comes increasing progressively.

Key-words: Sheep; OPP; AGID.

1. INTRODUÇÃO

Tem-se observado que a ovinocultura vem apresentando crescente participação sócio-econômica no total da atividade pecuária do Estado de São Paulo, se firmando cada vez mais como alternativa à pequena e média propriedade rural. Desde setembro de 1998, quando a Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo deflagrou o "Programa de Desenvolvimento e Expansão da Ovinocultura", houve um crescimento do plantel de ovinos no Estado de 272 mil para 934 mil cabeças.

O mercado de carne dos pequenos ruminantes domésticos está em franca ascensão em todo o país. Os preços hoje praticados no âmbito da unidade produtiva giram em volta de R\$ 2,20 a 4,50 por kg de peso vivo, ao passo que os preços pagos pela carne bovina, nas mesmas condições, estão em torno de R\$ 1,80 por kg de peso vivo.

Em vista disso, torna-se cada vez mais importante o conhecimento da prevalência de doenças que causam prejuízos a esta atividade além de permitir a adoção de medidas sanitárias que diminuam os riscos de ocorrência nos rebanhos, garantindo a oferta de produto de melhor qualidade para o crescente mercado cuja demanda de carne ovina, apenas em São Paulo, gira em torno de 30 toneladas por mês.

O valor desse trabalho reside no fato de que a pneumonia progressiva ovina acarreta importante perda econômica aos produtores de ovinos, muitos dos quais mantêm ou estão implantando projetos de erradicação. A imposição de barreiras para o trânsito de animais, sêmen e embriões pode colocar em risco toda a cadeia produtiva prejudicando as relações do Brasil com países importadores futuramente.

O conhecimento da prevalência dessa enfermidade na região de Botucatu, à luz da vigilância epidemiológica, contribuirá para a elaboração de controle sanitário que cumpre as normas do Programa Nacional de Sanidade de Caprinos e Ovinos (PNSCO) estabelecido pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), alicerçando uma ovinocultura de qualidade que beneficiará a todos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Maedi-Visna (MV) é um nome composto usado para descrever duas doenças infecciosas de comportamento crônico e progressivo de ovinos que compartilham etiologia viral comum. *Maedi*, caracterizada por pneumonia intersticial progressiva, e *Visna*, caracterizada por leucoencefalomielite (CHRISTODOULOPOULOS, 2005).

O agente etiológico da MV é um vírus não oncogênico, pertencente à família Retroviridae, subfamília Lentivirinae, gênero Lentivírus que se relaciona antigenicamente com o vírus da Artrite-Encefalite Caprina (CAE). A MV e a CAE são denominadas recentemente de Lentivirose de Pequenos Ruminantes (LVPR) (CALLADO et al., 2001; ARAÚJO et al., 2004; de ANDRÉS et al., 2005).

Descrita por Sigurdsson et al. (1954) na Islândia, onde foi erradicada em 1965, está presente atualmente em praticamente todos os países produtores de ovinos com exceção da Austrália, Nova Zelândia e Finlândia. É conhecida na França como “Doença de La bouhite”, na África do Sul como “Doença de Graff-Reinert”, na Holanda como “Zwoergersiekte” e nos Estados Unidos da América (EUA) originariamente como “Pneumonia Progressiva de Montana”. Na atualidade, a maioria dos países utiliza o termo Maedi-Visna (MV), com exceção dos EUA, onde a MV é denominada “Pneumonia Progressiva Ovina (PPO)”. No Brasil, a primeira descrição de LVPR foi realizada no Rio Grande do Sul, na espécie caprina (MOOJEN et al., 1986) e ovinos (RAVAZZOLO et al., 1995, SOTOMAIOR & MILCZEWSKI, 1997) mediante técnicas sorológicas. A presença do vírus foi confirmada, posteriormente, pelo isolamento do vírus de caprinos (HÖTZEL et al., 1993; CASTRO et al., 1999) e ovinos (MILCZEWSKI et al., 1997).

Clinicamente a LVPR se manifesta de quatro formas básicas: articular, nervosa, pulmonar e mamária. Sempre de forma crônica, com quadro persistente e insidioso, em decorrência de sua variabilidade genômica e da incapacidade do hospedeiro em desenvolver resposta imunitária eficiente (ARAÚJO et al., 2004).

Os Lentivírus são tradicionalmente considerados espécie-específicos, com tropismo por células da linhagem monocítica-fagocitária. Recentemente, na França, estudos genéticos de isolados de LVPR evidenciaram que os Lentivírus têm a capacidade de cruzar barreiras interespecies e de adaptação a

novos hospedeiros, podendo ser transmitidos entre ovinos e caprinos em ambas as direções (RAVAZZOLO et al., 2001; BATISTA et al., 2004). A infecção pelo LVPR é caracterizada por alta prevalência e, geralmente, baixa morbidade. Os animais infectados, mesmo aparentemente saudáveis ou soronegativos, podem disseminar o vírus continuamente (ABREU et al., 1998). A soroconversão pode também ser tardia, se tornando positiva desde poucas semanas até mais de dois anos pós-infecção. Logo após a infecção de uma célula, o vírus entra num padrão de replicação latente ou restrito. A quantidade de vírus no sangue e secreções, portanto, tende a ser muito baixa. Por isso é importante determinar as vias de transmissão atuais utilizadas pelos vírus para então podermos adotar medidas de controle e erradicação mais efetivas contra as infecções por Lentivírus (BLACKLAWS et al., 2004; LEGINAGOIKOA et al., 2005).

Atualmente, o colostro e o leite são considerados de primeira importância na transmissão das LVPR das fêmeas para os recém-nascidos. Isso é claramente demonstrado em programas onde se remove o neonato da fêmea e este passa a ser criado em mamadeira com colostro e leite de vaca. O contato entre a ovelha e o cordeiro também representa fator de risco na transmissão do vírus, devido à transmissão mediante aerossóis que pode ocorrer entre os animais de qualquer idade quando colocados em contato direto, ou mesmo até com certa distância entre eles. Este meio de transmissão é importante uma vez que pode ocorrer principalmente em criações intensivas, mas também nas extensivas (PETERHANS et al., 2004; BLACKLAWS et al., 2004; LEGINAGOIKOA et al., 2005).

A importância da transmissão do vírus na vida intra-uterina ainda não foi totalmente esclarecida. Alguns estudos sugerem este tipo de transmissão em mais de 10% dos fetos retirados por cesariana nascidos de fêmeas soropositivas (CALLADO et al., 2001; BLACKLAWS et al., 2004). O papel deste tipo de transmissão vertical é de difícil conclusão uma vez que o método de diagnóstico que se utiliza pode influenciar nos resultados obtidos. Se o PCR for utilizado, a sequência de nucleotídeo deve ser comparada com a do vírus que infecta a matriz. No caso da sorologia ser utilizada, o longo e variável tempo para a soro-conversão pode dificultar a conclusão se a transmissão foi

realmente intra-uterina. Placentas contaminadas com sangue materno também podem representar uma fonte de infecção (PETERHANS et al., 2004).

O vírus foi encontrado no sêmen de carneiros e bodes naturalmente infectados, mas o papel deste fato na transmissão da doença ainda não foi totalmente elucidado (CALLADO et al., 2001; BLACKLAWS et al., 2004; PETERHANS et al., 2004; LEGINAGOIKOA et al., 2005).

Humanos podem contribuir para a disseminação da infecção através de roupas, sapatos e instrumentos como tesoura para casco e lâ, tosquiadeira, e reutilização de agulhas e seringas não estéreis quando no trabalho com animais infectados e não infectados (PETERHANS et al., 2004).

Os LVPR são introduzidos no organismo do hospedeiro geralmente por via digestiva ou respiratória. Em seguida o vírus atinge as células do sistema monocítico-fagocitário, produzindo a infecção persistente no animal. Os mecanismos desenvolvidos pelo vírus para a persistência da infecção perante a resposta imune são (CALLADO et al., 2001; HOVDEN, 2001):

- capacidade dos monócitos de conter provírus integrado em seu genoma sem ser detectado pelo sistema imune, pois a expressão do gene viral somente é ativada quando os monócitos maturam para macrófagos;
- capacidade de infectar permanentemente os macrófagos, sem causar destruição celular, disseminando o vírus no próprio hospedeiro;
- replicação de variantes antigênicas na presença de anticorpos neutralizantes e,
- produção insuficiente de anticorpos neutralizantes associada à produção de interferon, que diminui o índice de replicação e favorece a persistência do estímulo antigênico.

A replicação viral é seguida pela produção de anticorpos e citocinas que participam do desenvolvimento das alterações imunopatológicas que ocorrem nos órgãos-alvo. A produção persistente de antígenos virais e a interação, quer seja na forma de proteína livre ou expressa na célula durante a infecção, com os anticorpos formando imunocomplexos, contribuem para a progressão da doença (CALLADO et al., 2001).

No pulmão, há desenvolvimento gradual de pneumonia intersticial sem qualquer evidência de cicatrização ou retração tecidual. Desta forma, os

pulmões continuam a aumentar de tamanho e peso. As lesões desenvolvem-se lentamente durante a fase pré-clínica e clínica da doença, mostrando-se mais agressivas quando do aparecimento dos sintomas clínicos. Já no sistema nervoso central, o ácido nucléico e as proteínas virais estão presentes nos oligodendrócitos, acreditando-se que a desmielinização resulte do efeito direto do vírus nessas células, e do resultado de resposta inflamatória provocada pela presença de tais antígenos (RADOSTITS et al., 2000).

A alta variabilidade genômica do vírus tem contribuído para a origem de muitas linhagens virais com diferente patogenicidade. Por esta razão, as manifestações clínicas e patológicas da infecção pelo vírus MV em áreas geográficas diferentes podem ser variáveis (ARAÚJO et al., 2004).

A infecção por LVPR, geralmente persistente e assintomática, pode causar afecção multissistêmica, de evolução geralmente crônica, com agravamento progressivo das lesões, perda de peso e debilidade até a morte.

Do ponto de vista clínico e anatomo-histopatológico, as apresentações clínicas da infecção por LVPR têm sido classificadas, como anteriormente descrito, em quatro formas básicas: nervosa, articular, pulmonar e mamária. Além dessas formas, há registro, em animais soropositivos, de alterações inflamatórias nos rins, proliferação de células linfóides no baço e linfonodos, e infiltrações mononucleares do endométrio (CALLADO et al., 2001; ARAÚJO et al., 2004).

A apresentação pulmonar da doença, é a manifestação clínica mais comum da infecção pelo Lentivírus. O sinal clínico mais precoce é a perda de condição corporal, seguida, em alguns animais, de taquipnéia. É muito freqüente e grave em ovinos, embora rara e de pouca gravidade em caprinos. Os sinais são tosse, dispnéia após exercícios físicos e crepitação grossa à auscultação (CHRISTODOULOPOULOS, 2005). Não há aumento da temperatura corpórea, a não ser que ocorra contaminação bacteriana secundária. À necropsia observam-se aderências pleurais, pulmões pesados e firmes à palpação e áreas de coloração róseo-acinzentadas. Os achados histopatológicos são de pneumonia intersticial (MARTIN, 1996; MELLING & ALDER, 1998; RADOSTITS et al., 2000; CALLADO et al., 2001; BELKNAP, 2004).

A forma nervosa da doença, ocorre com muito menos freqüência do que Maedi, tendo sido relatada em ovinos adultos, geralmente como complicação da forma respiratória. Em cabritos com CAE, é relatada em animais de 1 a 4 meses de idade ou, mais raramente, em caprinos mais velhos, em associação com a forma articular (CALLADO et al., 2001). Duas síndromes são relatadas: a cerebral com predomínio de andar em círculos, desvio lateral da cabeça e ataxia, e a espinhal, caracterizada por paralisia progressiva dos membros posteriores. Tremores da cabeça e cegueira também podem ocorrer. As lesões microscópicas são de leucoencefalomielite e desmielinização (MARTIN, 1996).

A forma mamária é freqüente, tendo grande significado econômico em caprinos, devido ao comprometimento da produção leiteira e predisposição a infecções secundárias da glândula mamária. A forma aguda é observada no início da lactogênese, havendo endurecimento não edematoso do órgão, com baixa ou nenhuma produção leiteira. A forma crônica, também comum entre as ovelhas, instala-se durante a lactação com assimetria e endurecimento da mama e leite de aspecto normal. Em ambas as formas há hipertrofia persistente dos linfonodos retromamários e, histologicamente, observa-se mamite intersticial com presença de nódulos linfóides (MENZIES & RAMANOON, 2001).

Em caprinos, a forma mais importante é a articular, geralmente observada em animais com mais de 8 meses de idade com CAE. Em ovinos, artrites são menos freqüentes, acometendo animais de dois a três anos, freqüentemente como complicação da forma respiratória. As alterações clínicas afetam freqüentemente as articulações carpianas, sendo observado aumento na consistência e tamanho das articulações. Ao exame macro e microscópico observam-se lesões típicas de processos degenerativos e inflamatórios, que afetam os tecidos conjuntivos periarticulares, bolsas sinoviais, tendões e bainhas tendinosas (CALLADO et al., 2001).

Pelas características da infecção persistente por LVPR, a forma mais prática de diagnóstico é a baseada em métodos sorológicos, pois a presença de anticorpos demonstra indiretamente a existência de infecção. O diagnóstico da infecção pelo isolamento e identificação do agente não é rotineiramente empregado por ser demorado e bastante dispendioso, mesmo havendo

disponíveis linhagens de células susceptíveis à infecção “in vitro” (de ANDRÉS et al., 2005).

Dentre os testes sorológicos disponíveis, a imunodifusão em gel de ágar (IDGA) tem sido amplamente utilizada devido sua praticidade para execução, baixo custo e alta sensibilidade (acima de 90%) (ASSIS & GOUVEIA, 1994; ABREU et al., 1998; CALLADO et al., 2001; ALMEIDA, 2003; ARAÚJO et al., 2004; de ANDRÉS et al., 2005). O teste ELISA, considerado de custo mais elevado, apresenta sensibilidade de 92 a 100% e especificidade de 93 a 100% (de ANDRÉS et al., 2005).

No Brasil, as primeiras descrições de animais soropositivos para LVPR ocorreram no Rio Grande do Sul (MOOJEN et al., 1986). A partir de então, a doença tem sido descrita em vários Estados, especialmente em plantéis de alto padrão genético (CASTRO & MELO, 2001).

Além de descrições clínicas e anatomo-patológicas, tem sido registrada a ocorrência de animais soropositivos em vários Estados brasileiros com variável prevalência (tabela 1). Outros estudos reforçam e apontam a disseminação do vírus da MV em importantes centros produtores de ovinos (tabela 2).

Tabela 1 - Prevalência de ovinos soropositivos para Maedi-Visna no teste de IDGA em alguns estados Brasileiros.

<i>Estado</i>	<i>Prevalência (%)</i>	<i>Nº de animais</i>	<i>Referência</i>
Bahia	12,82	117	ASSIS & GOUVEIA, (1994)
Ceará	27,47	768	ASSIS & GOUVEIA, (1994)
Minas Gerais	7,7	1353	GOUVEIA et al., (2003a)
Paraíba	0	68	GOUVEIA et al., (2003b)
Pernambuco	0,73	413	FALCÃO et al., (2003)
	8,16	325	OLIVEIRA et al., (2003)
	7,4	282	ALENCAR et al., (2003)
Sergipe	4,25	47	MELO et al., (2003)

Fonte: Batista et al, 2004, Anais do XI Congresso Latino-Americano de Buiatria.

Tabela 2 – Detecção sorológica de Maedi-Visna em ovinos por Estado e respectivos autores.

<i>Estados</i>	<i>Referência</i>
Paraná	SOTOMAIOR & MILCZEWSKI, (1997)
Paraíba	CASTRO et al., (2000)
Pernambuco	CASTRO et al., (2000)
Rio de Janeiro	ASSIS & GOUVEIA, (1994)
Rio Grande do Sul	MOOJEN et al., (1986) DAL PIZZOL et al., (1989)
Minas Gerais	ASSIS & GOUVEIA, (1994) GOUVEIA & MARQUES, (2006)
Ceará	ALMEIDA, (2003) ARAÚJO et al., (2004)
Rio Grande do Norte	SILVA, (2003)

Fonte: Callado et al., 2001.

Há relatos da MV na maioria dos países com rebanhos ovinos comerciais. Na Islândia, o descarte de animais positivos e a implantação de programas de controle e prevenção levou a erradicação da doença (RADOSTITS et al., 2000; PETERHANS et al., 2004). Porém, a maior parte dos Países europeus e da América do Norte não são considerados livres da LVPR. Diversos estudos têm sido desenvolvidos nesses países com objetivo de caracterizar a prevalência desta enfermidade (tabela 3) e dar suporte a programas de erradicação (de ANDRÉS et al., 2005).

Nos Estados Unidos, a verdadeira prevalência não é conhecida. Soroprevalência de 26 % é registrada em animais de 29 estados, e 48% dos rebanhos apresentam um ou mais ovinos soropositivos. No Canadá, foram encontrados 19% de ovinos acima de 1 ano de idade com anticorpos. Neste estudo, 63% dos rebanhos estavam infectados, e a média de prevalência foi de 12%. A doença não apresenta ocorrência significativa no Reino Unido (RADOSTITS et al., 2000).

Tabela 3 – Prevalência da infecção por Maedi-Visna em países da Europa e América do Norte, pela técnica de IDGA.

<i>País</i>	<i>Prevalência (%)</i>	<i>Nº de animais</i>	<i>Referência</i>
França	16,5	934	HOUWERS et al., (1982)
EUA	9,0	326	BRODIE et al., (1992)
	26,9	412	KEEN et al., (1995)
	83,0	42	BRODIE et al., (1992)
	18,8	170	KWANG & TORRES, (1994)
	24,2	124	KEEN et al., (1996)
	65,6	32	DeMARTINI et al., (1999)
Canadá	23,1	896	SIMARD & BRISCOE, (1990)
Alemanha	20,7	276	HOUWERS & SCHAAKE,
	28,8	125	(1987)
Itália			COACKLEY et al., (1984)
	37,0	194	ROSATI et al., (1994)
	25,0	94	ROSATI et al., (1994)
	5,0	41	ROSATI et al., (1994)
Espanha	31,7	1941	VAREA et al., (2001)

Fonte: de Andrés et al., 2005.

Atualmente, os programas de controle ou erradicação da infecção por LVPR têm sido adotados em vários países, geralmente por adesão voluntária, baseados no teste sorológico periódico dos animais, com separação ou eliminação dos positivos, e uso de certas práticas de manejo para prevenção da disseminação do agente (OIE, 2004). Nos plantéis suspeitos ou sabidamente positivos, algumas recomendações têm sido adotadas, com resultados bastante variados (PÉPIN et al., 1998; CALLADO et al., 2001; ÁLVARES et al., 2005):

- separar as crias imediatamente após o nascimento, evitar o contato com secreções e isolá-las dos adultos;

- administrar colostro termicamente tratado, de fêmeas não infectadas ou de vaca;
- alimentar as crias com substitutos do leite;
- testar sorologicamente os animais a intervalos regulares e separar ou eliminar os positivos;
- adotar a linha de ordenha, ordenhando primeiro os animais soronegativos e posteriormente os soropositivos;
- controlar a monta com reprodutores positivos;
- usar materiais esterilizados, como seringas e agulhas, instrumentos cirúrgicos, tatuador entre outros.

A elaboração de vacina contra as LVPR poderá demorar a ser disponibilizada por causa das propriedades mutagênicas do vírus. Apesar disto, uma série de grupos de pesquisa continuam defendendo a viabilidade da imunoprofilaxia vacinal, enfocando diferentes estratégias. O uso de vírus atenuados obtidos por deleção de genes selecionados parece promissor. A seleção de ovelhas com resistência natural ao Maedi-Visna não parece ser uma abordagem realista para o controle da doença, visto que pode atrasar ou reverter os programas de melhoramento genético em andamento (CHRISTODOULOPOULOS, 2005).

No Brasil, até o momento, o controle é realizado com base na conscientização dos proprietários, principalmente na região nordeste onde se concentra o maior número de criações segundo dados da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) em Sobral – CE. Entretanto, programa sanitário do governo está sendo desenvolvido para controle e futura erradicação das Lentivirose de Pequenos Ruminantes (PNSCO-MAPA).

3. **OBJETIVOS**

O presente trabalho tem como objetivos:

- determinar a soroprevalência de Maedi-Visna em ovinos na região de Botucatu-SP;
- determinar os fatores predisponentes na transmissão de Maedi-Visna;
- criar um banco de soro para utilização em pesquisas futuras.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado na Clínica de Grandes Animais “Marcio Graf Rubens Kuchembuck” do Departamento de Clínica Veterinária e no Laboratório de Planejamento Animal do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ – UNESP, Campus de Botucatu – SP, bem como nas propriedades produtoras de ovinos da região de Botucatu - SP.

4.1 Animais

Foram utilizados ovinos de raça, sexo e pesos variados, adultos, clinicamente sadios ou não. Os animais foram manejados nas instalações das fazendas, permanecendo em baias ou piquetes sombreados com cochos de água “*ad libitum*” durante a coleta do material.

4.2 Questionário

Com o objetivo de se caracterizar os fatores predisponentes na transmissão da enfermidade, as seguintes perguntas foram formuladas:

- Em algum período do dia os animais são confinados (sim ou não)?
- As agulhas e seringas são trocadas durante as vacinações ou vermifugações (sim ou não)?
- É realizada quarentena dos animais recém introduzidos no rebanho (sim ou não)?

Na oportunidade também foram coletados dados referentes à origem dos animais e as principais doenças do rebanho.

4.3 Tamanho amostral

Foram sorteados, ao acaso, oito criatórios na região de Botucatu de um total de vinte propriedades. Após ser verificado o número total de animais nas oito propriedades, foi realizada uma amostragem de 400 animais, guardando as proporções nas propriedades e considerando um intervalo de confiança de 95% e 3,0% de erro amostral, segundo Sampaio (1998). Sendo assim, o número de amostras de sangue colhidas em cada propriedade foi definido de acordo com o efetivo de cada rebanho e os animais escolhidos aleatoriamente.

4.4 Colheita de sangue

Inicialmente, foram colhidos 10 mL de sangue venoso, mediante punção da veia jugular com agulha estéril em fresco sem anticoagulante. Posteriormente, os frascos foram centrifugados a 2000 rpm por dez minutos para a obtenção do soro que foi transferido para recipiente numerado e estocado a -20 °C para posterior realização da prova de IDGA para diagnóstico da MV.

4.5 Exames Laboratoriais

A técnica utilizada foi a imunodifusão em gel de agar (IDGA), que é recomendada pela OIE (2004). Foi utilizado o kit diagnóstico de CAE produzido pelo laboratório Biovetech – Pernambuco – Brasil. Esta técnica utiliza antígeno nucleoprotéico produzido a partir de sobrenadantes de cultivo primário de células de membrana sinovial caprina, inoculadas com amostra CAEV-Cork (ABREU et al., 1998). Para a realização da IDGA, a solução de agarose a 1% em tampão borato, pH 7,4, foi distribuída em placas de Petri 100x15 mm de diâmetro, na proporção de 15 mL por placa. Após a solidificação do gel, as placas foram estocadas em refrigerador por 24 horas, quando foi procedida a perfuração do gel para a obtenção de sete conjuntos hexagonais por placa, com sete orifícios cada. Após a numeração dos orifícios, foi realizada a distribuição de 25 µL do antígeno no orifício 7 (central), igual quantidade de soro padrão positivo nos orifícios 2, 4 e 6 e de soro teste nos orifícios 1, 3 e 5 (figura 1). As placas foram mantidas em atmosfera úmida à temperatura entre 20-25°C, por 24 horas, quando foi realizada a primeira leitura. Em seguida as placas foram mantidas por mais 24 horas sob temperatura entre 2-8°C para leitura definitiva após este período (CASTRO et al., 1994).

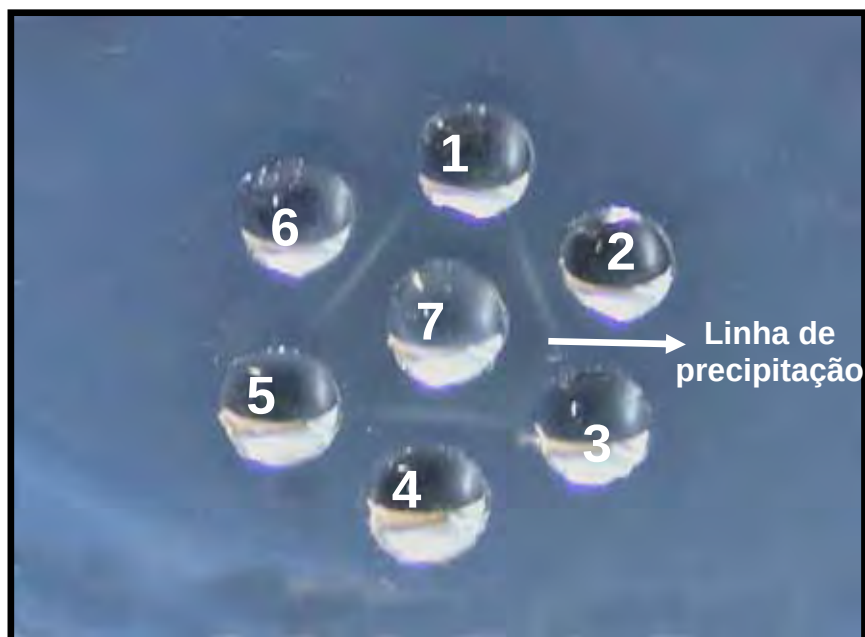


Figura 1 – Disposição dos soros e antígeno na reação de imunodifusão em gel de agar para o diagnóstico de Maedi-Visna em ovinos

A interpretação foi realizada de acordo com as normas internacionalmente aceitas, obtendo seus resultados positivos ou negativos a partir da observação da formação de linha de precipitação entre o soro teste e o antígeno. Foi considerado positivo o soro cuja linha de precipitação apresentou identidade com a linha formada pelo soro padrão (figura 2). Aqueles em que não houve formação de linha de precipitação ou a linha formada não mostrou identidade com a do soro padrão (linha inespecífica) foram considerados negativos.

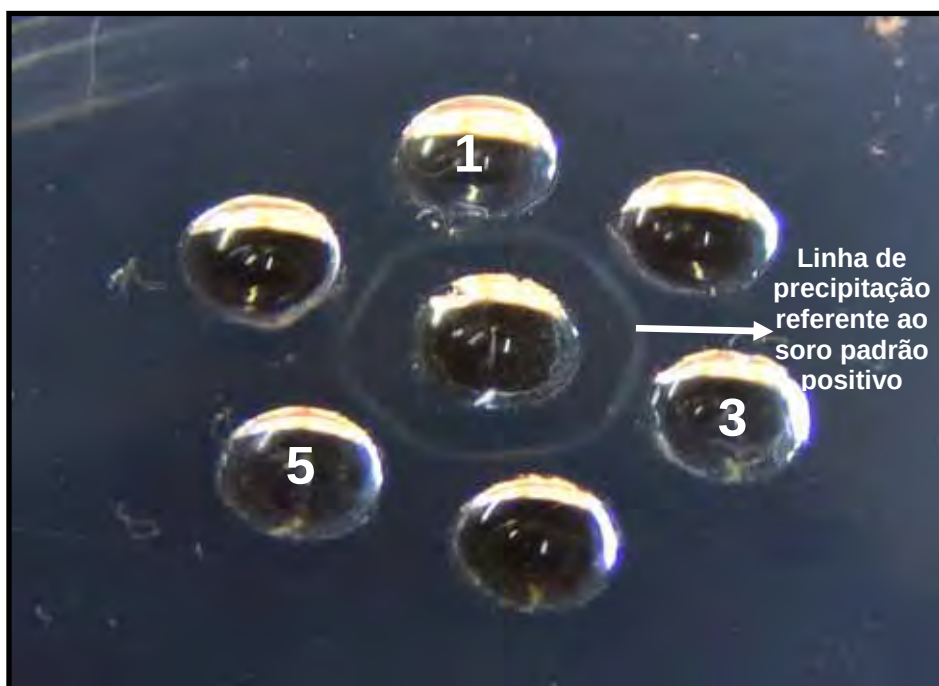


Figura 2 – Soro controle positivo ovino disposto nos poços 1, 3 e 5 para o diagnóstico de MV em ovinos

4.6 Análise estatística

Os resultados foram analisados utilizando-se estatística descritiva.

5. RESULTADOS

Nas 400 amostras de soro provenientes das oito propriedades estudadas a prova de imunodifusão em gel de agar mostrou-se 100% negativa para MV.

Para os questionários aplicados nas oito propriedades foram obtidas as seguintes respostas:

- No caso da primeira pergunta realizada, 100% das propriedades confinavam os animais algum momento do dia. Nessas, o rebanho era conduzido a galpões onde passavam a noite para promover conforto térmico e proteção contra ataques de predadores e furtos.
- Em relação à pergunta quanto ao uso de uma mesma agulha ou seringa em mais de um animal durante o manejo, a resposta nas oito propriedades foi sim (100%) e que esta prática era realizada rotineiramente.
- Em relação à terceira pergunta onde se visou obter dados quanto ao uso da prática de quarentena para animais recém introduzidos no rebanho, nenhuma propriedade realiza esta prática de forma satisfatória.

Quanto à origem dos animais dos grupos estudados, constatou-se que em 75% (6 das 8 propriedades) os animais eram provenientes de plantéis do Estado da Bahia.

Os principais prejuízos ocasionados por doenças relatados por todos ovinocultores das propriedades estudadas foram mortalidade devido a verminose, seguida de broncopneumonia e descartes em função da perda de tecido mamário ocasionado por mastite.

O banco de soro formado conta com mais de 400 amostras de soro de animais, havendo pelo menos cinco alíquotas de cada animal, numeradas e acondicionadas em caixas identificadas por lotes e datas de colheita, mantidos a - 20°C.

6. DISCUSSÃO

Baseados no resultado de 100% de negatividade das amostras, levantam algumas possibilidades. O teste de IDGA que utiliza antígeno nucleoprotéico produzido a partir de sobrenadantes de cultivo primário de células de membrana sinovial caprina, inoculadas com amostra CAEV-Cork (ABREU et al., 1998), recomendado pela OIE e MAPA para ser utilizado como medida de controle e erradicação da MV em propriedades produtoras de ovinos, foi adequado, uma vez que soro controle positivo ovino reagiu contra o antígeno presente no kit utilizado.

Segundo BLACKLAWS et al., (2004) a soroconversão pode ser tardia, se tornando positiva desde poucas semanas até mais de 2 anos pós-infecção. Este fato foi minimizado devido à utilização nesta pesquisa de animais adultos, em sua maioria matrizes que estavam nas propriedades por no mínimo 18 meses, tempo este considerado suficiente para que ocorra a soroconversão dos portadores e disseminação do vírus.

De acordo com o registro do Núcleo de criadores de Ovinos da Região de Botucatu, filiados à Associação Paulista dos Criadores de Ovinos (ASPACO), havia no momento da pesquisa 20 propriedades produtoras de ovinos instaladas nesta área. Munidos desta informação foi calculado o tamanho amostral por sorteio de oito propriedades produtoras de ovinos com o cuidado de se manter a proporcionalidade em função ao rebanho efetivo de cada uma delas. Além disso, para a coleta do sangue os animais foram selecionados aleatoriamente por ordem de saída da seringa de contenção. Com isso podemos com segurança afirmar que nossa amostra foi estatisticamente significativa.

Quanto aos fatores predisponentes para a transmissão da MV, concordamos com PETERHANS et al., (2004) que determinadas práticas de manejo favorecem a transmissão da doença. A superlotação dos barracões durante a maior parte do tempo, ou seja, das 17:00 da tarde às 9:00 horas da manhã do dia seguinte, para minimizar as perdas com furtos, ataques de animais e mesmo como medida de controle contra verminose. Tal prática de manejo é de extrema importância para o bem estar e segurança dos animais. Contudo, não podemos esquecer dos cuidados com a lotação adequada, o tipo de piso utilizado, se ele é trocado regularmente, se é realizada desinfecção

dessas instalações de forma adequada, se a ventilação do ambiente é adequada ou se há fortes correntes de ar, entre outras.

A reutilização de agulhas e seringas é outro fato que deve ser abolido da prática a campo. Rotineiramente utilizada durante as vacinações, vermifugações e demais tratamentos (como o fornecimento de medicamento de uso interno, principalmente intravenoso, intramuscular e subcutâneo), onde ocorre a contaminação dos materiais empregados com sangue que podem transportar consigo partículas infectantes. Esta prática deve ser combatida e não devem ser aceitas medidas inconsistentes como a utilização, por exemplo, de uma agulha para um determinado número de animais. Devemos pensar no prejuízo maior que é a disseminação da doença no rebanho. Outro ponto muito importante é o não cumprimento da quarentena. O local para essa prática ser realizada não pode estar próximo das instalações do plantel e principalmente não se pode permitir o contato destes com os animais em quarentena, como é comumente visto. Este ponto deve ser respeitado sob a dura pena de ter uma nova doença instalada na cabanha em questão de dias. Durante o período em que o animal estiver na quarentena, o mesmo deve ser examinado por profissional competente e, principalmente, coletadas amostras de sangue e fezes que devem ser encaminhadas a laboratórios de referência para o diagnóstico de doenças que podem ser perfeitamente evitadas de ingressar em uma criação, como é o caso da MV. Dada a importância deste fato, surpreende-nos nenhuma das propriedades estudadas manter ou realizar a quarentena de forma adequada.

Constatamos a ocorrência de broncopneumonia e mastite nas propriedades estudadas, que são relatadas como manifestações clínicas comuns MV (PÉPIN et al., 1998; CHRISTODOULOPOULOS, 2005). Nos casos de suspeita de broncopneumonia eram comuns sinais como o corrimento nasal bilateral que variava de seroso a mucopurulento, tosse produtiva, dispnéia e taquipnéia. No caso da mastite, observamos animais com inflamação da glândula mamária, perda de tecido mamário, secreção láctea com consistência, cor e odor alterado, e ainda lotes de fêmeas para descarte em função do grau de comprometimento do úbere. A prevalência destas doenças apesar das sorologias negativas para MV nos leva inferir que existe grande campo para pesquisas futuras, necessitando de maiores esforços e concentrados estudos

com objetivo de determinar a real etiologia destas enfermidades, contribuindo assim para o seu controle.

O fato da maioria dos plantéis da região de Botucatu serem provenientes de regiões com animais soropositivos para MV, de acordo com trabalho de BATISTA et al., (2004), aparentemente não contribuiu para a ocorrência de positivos neste trabalho. Reforçamos a necessidade da continuidade do trabalho de vigilância para que o rebanho desta região continue sorologicamente negativo.

A criação do banco de soro ovino, paralelamente a este trabalho, é de fundamental importância para o desenvolvimento sustentável da ovinocultura regional, pois permite que pesquisadores utilizem os componentes destas amostras nas mais diversas áreas da veterinária a qualquer momento. Estudos dentro da área da ovinocultura tomam importância a cada dia reforçando assim a necessidade da formação e devida manutenção desta verdadeira riqueza de material que se bem empregada contribuirá para o progresso da economia local e conseqüentemente nacional.

7. CONCLUSÃO

- a. Todas as propriedades avaliadas, distribuídas na região de Botucatu mostraram-se negativas para MV.
- b. Atualmente, na região de Botucatu, a MV não é um problema à produção de ovinos.
- c. Novos estudos de vigilância epidemiológica devem ser realizados para que medidas de controle sejam tomadas tão logo seja detectada atividade do vírus da MV na região.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, S.R.O.; CASTRO, R.S.; NASCIMENTO, S.A.; SOUZA M.G. Produção de antígeno nucleoprotéico do vírus da artrite-encefalite caprina e comparação com o do vírus maedi-visna para utilização em teste de imunodifusão em agar gel. **Pesqui. Vet. Bras.**, v.18, p.57-60, 1998.

ALENCAR, C.A.; CASTRO, R.S.; NASCIMENTO, S.A.; OLIVEIRA, M.M.M.; CALLADO, A.K.C.; FALCÃO, L.P.C.A.; ALVES, F.S.F.; MELO, L.E.H.; RESÉNDIZ, M.R. Ensaio Imunoenzimático de pequenos ruminantes em ovinos. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE BUIATRIA, 11., 2003, Salvador. **Anais...** Salvador: Associação Baiana de Buiatria, 2003. p.51.

ALVAREZ, V.; ARRANZ, J.; DALTABUIT-TEST, M.; LEGINAGOIKOA, I.; JUSTE, R.A.; AMORENA, B.; DE ANDRÉS, D.; LUJÁN, L.L.; BADIOLA, J.J.; BERRIATUA, E. Relative contribution of colostrum from Maedi-Visna vírus (MVV) infected ewes to MVV-seroprevalence in lambs. **Res. Vet. Sci.**, v. 78, p. 237-243, 2005.

ALMEIDA, N.C. **Isolamento e identificação do vírus Maedi-Visna através de microscopia eletrônica de transmissão de animal comprovadamente soropositivo pelo IDGA.** 2003. 68f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.

ARAÚJO, S.A.C.; DANTAS, T.V.M.; SILVA, J.B.A.; RIBEIRO, A.I.; RICARTE, A.R.F.; TEIXEIRA, M.F.S. Identificação do Maedi-Visna vírus em pulmão de ovinos infectados naturalmente. **Arq. Inst. Biol.**, v.71, n.4, p.431-436, 2004.

ASSIS, A.P.M.V.; GOUVEIA, A.M.G. Evidências sorológicas de lentivírus (maedi-visna/artrite encefalite caprina) em rebanhos nos estados de MG, RJ, BA e CE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23., 1994, Olinda. **Anais...** Olinda, 1994.

BATISTA, M.C.S.; CASTRO, R.S.; CARVALHO, F.A.A.; CRUZ, M.S.P.; SILVA, S.M.M.S.; REGO, E.W.; LOPES, J.B. Anticorpos anti-lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos integrantes de nove municípios Piauienses. **Cienc. Vet. Trop.**, v.7, n.2-3, p.75-81, 2004.

BELKNAP, E.B. Enfermidades do Sistema Respiratório. In: PUGH, D.G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Rocca, 2004.

BLACKLAWS, B.A.; BERRIATUA, E.; TORSTEINSDOTTIR, S.; WATT, N.J.; DE ANDRÉS, D.; KLEIN, D.; HARKISS, G.D. Transmission of small ruminant lentiviruses. **Vet. Microbiol.**, v.101, p. 199-208, 2004.

CALLADO, A.K.; CASTRO, R.S.; TEIXEIRA, M.F.S. Lentivírus de pequenos ruminantes (CAEV e Maedi-Visna): revisão e perspectivas. **Pesqui. Vet. Bras.**, v. 21, n.3, p. 87-97, 2001.

CASTRO, R.S.; LEITE, R.C.; RESENDE, M.; MARTINS, A.; GOUVEIA, A.M.G. Caprine arthritis encephalitis virus isolation and identification using fluorescent antibody and polymerase chain reaction. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.51, n.3, p.235-240, 1999.

CASTRO, R.S.; LEITE, R.C.; AZEVEDO, E.O.; TABOSA, I.; NASCIMENTO, S.A.; OLIVEIRA, M.M.M.; COSTA, L.S.P.; ALENCAR, C.A.S.; CALLADO, A.K.C.; MELO, L.E.H.; FREITAS, A.A. 2000. Anticorpos contra lentivírus de pequenos ruminantes (CAEV e Maedi-visna) em caprinos sem raça definida dos Estados de Pernambuco e Paraíba. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 28. **Resumos...**p. 84.

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. **Ciênc. Vet. Tróp.**, v.4, n. 2/3, p. 315-320, 2001.

CHRISTODOULOPOULOS, G. Maedi – Visna: Clinical review and short reference on the disease status in Mediterranean countries. **Small Rumin. Res.**, v.62, p. 47-53, 2005.

CUNHA, R.G.; NASCIMENTO, M.D. Ocorrência de anticorpos para o vírus da artrite-encefalite caprina em soros de caprinos do Estado do Rio de Janeiro. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.17, p.72-75, 1995.

DAL PIZZOL, M.; RAVAZZOLO, A.P.; GONÇALVES, I.P.D.; HOTZEL, I.; FERNANDES, J.C.T.; MOOJEN, V. MAEDI-VISNA: identificação de ovinos

infectados no Rio Grande do Sul, Brasil, 1987-1989. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.17, p.65-76, 1989.

de ANDRÉS, D.; KLEIN, D.; WATT, N.J.; BERRIATUA, E.; TORSTEINSDOTTIR, S.; BLACKLAWS, B.A.; HARKISS, G.D. Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. **Vet. Microbiol.**, v. 107, p. 49-62, 2005.

FALCÃO, L.P.C.A; CAMPOS K.M.T; CALLADO, A.K.C.; CASTRO, R.S.; OLIVEIRA, E.J.C.; FALCÃO, FILHO M.C.A.; NASCIMENTO, S.A.; MELO, L.E.H.; ARRUDA, E.T. Anticorpos contra Lentivírus de Pequenos Ruminantes (CAEV e Maedi-visna) em ovinos Santa Inês no Estado de Pernambuco. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE BUIATRIA, 11., 2003, Salvador. **Anais...** Salvador: Associação Baiana de Buiatria, 2003. R.111, p.50.

GOUVEIA, A.M.G.; LIMA, F.A.; ABREU, C.P.; LOBATO, Z.I.P.; YORINORI, E.H.; CYPRESTE, B.M. Lentiviroses de pequenos ruminantes em ovinos e caprinos em Minas Gerais. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE BUIATRIA, 11., 2003. Salvador. **Anais...** Salvador: Associação Baiana de Buiatria, 2003a. R.116, p.52.

GOUVEIA, A.M.G.; LIMA, F.A.; SOUSA, G.J.G.; LOBATO, Z.I.P.; SILVA, A.H.; SILVA, M.A.V.; CYPRESTE, B.M. Frequência sorológica de Maedi-Visna, língua azul em ovinos, em propriedades e matadouro da Paraíba. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE BUIATRIA, 11., 2003. Salvador. **Anais...** Salvador: Associação Baiana de Buiatria, 2003b. R.117, p.52.

GOUVEIA, A.M.G.; MARQUES, A.P.R. Prevalência sorológica de Lentivírus Maedi Visna em ovinos no estado de Minas Gerais. **Arq. Brás. Méd. Vet. Zootec.**, 2006.

HÖTZEL, I.; BASTOS, S.E.; RAVAZZOLO, A.P.; MOOJEN, V. Caprine arthritis encephalitis virus: isolation and identification in Rio Grande do Sul, Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.26, p.1175-1179, 1993.

HOVDEN, A.O. **The influence of CXCR4 on Maedi-Visna virus-induced syncytium formation.** 2001. 86f. Tese (*Candidatus scientiarum*) – University of Bergen, Germany.

LEGINAGOIKOA, I.; DALTABUIT-TEST, M.; ALAVAREZ V.; ARRANZ, J.; JUSTE, R.A.; AMORENA, B.; DE ANDRÉS, D.; LUJÁN, J.J.; BERRIATUA, E. Horizontal Maedi-Visna virus (MVV) infection in adult dairy-sheep raised under varying MVV-infection pressures investigated by ELISA and PCR. **Res. Vet. Sci.**, 2005. In Press.

LINKLATER, K.A. ; SMITH, M. **Diseases and disorders of the sheep and goat.** 2 ed.: Mosby-Wolf, 1997. 256p.

MARTIN, W.B. Respiratory infections of sheep. **Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 19, n. 3. p. 171-179, 1996.

MELLING, M.; ALDER, M. Maedi-Visna virus infection in practice. In:_____.**Sheep and goat practice.** Philadelphia: Saunders, 1998.

MELO, C.B.; CASTRO, R.S.; OLIVEIRA, A.A. Estudo preliminar sobre a infecção por Lentivírus de Pequenos Ruminantes em ovinos e caprinos em Sergipe. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE BUIATRIA, 11., 2003, Salvador. **Anais...** Salvador: Associação Baiana de Buiatria, 2003. R.100, p.47.

MENZIES, P.I.; RAMANOON, S. Mastitis of sheep and goats. Update on Small Ruminant Medicine. **Vet. Clin. North Am.**, v.17, n.2, p. 333-358, 2001.

MILCZEWSKI, V.; SOTOMAIOR, C.; REISCHAK, D.; VON GROLL, A. Relato do primeiro isolamento do vírus Maedi-Visna no estado do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25., 1997, Gramado. **Anais...** Gramado, 1997. INF 097-P, 179.

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. UFRGS**, v.1, p.77-78,1986.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES - OIE. **Manual of standards diagnostic tests and vaccines**. 4^a. ed. Paris:World Organization for Animal Health, 2004.

OLIVEIRA, M.M.M.; CASTRO, R.S.; CARNEIRO, K.L. Anticorpos contra Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR) em caprinos sem raça definida (SRD) e ovinos crioulos em abatedouros do estado de Pernambuco. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE BUIATRIA, 11, 2003, Salvador. **Anais...** Salvador: Associação Baiana de Buiatria, 2003. R.112, p.51.

PÉPIN, M.; VITU, C.; RUSSO, P.; MORNEX, J.F.; PETERHANS, E. Maedi-Visna virus infection in sheep: a review. **Vet. Res.**, v.29, n.3-4, p.341-367,1998.

PETERHANS, E.; GREENLAND, T.; BADIOLA, J.; HARKISS, G.; BERTONI, G.; AMORENA, B.; ELIASZEWICZ, M.; JUSTE, R.A.; KRABNIG, R.; LAFONT, J.P.; LENIHAN, P.; PÉTURSSON, G.; PRITCHARD, G.; THORLEY, J.; VITU, C.; MORNEX, J.F.; PÉPIN, M. Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. **Vet. Res.**, v. 35, p.257-274, 2004.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica Veterinária**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

RAVAZZOLO, A.P.; MARCHESIN, D.; CALDAS, A.P.; VIEIRA, L.A.; MOOJEN, V.; QUÉRAT, G. Detection of brazilian isolates of Visna-Maedi and caprine arthritis encephalitis virus by polymerase chain reaction. In: ENCONTRO DE VIROLOGIA, 5., 1995, **Resumos...**p. B-15.

RAVAZZOLO, A.P.; REISCHAK, D.; PETERHANS, E.; ZANONI, R. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses from Southern Brazil. **Virus Res.**, v.79, p.117-123, 2001.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal.**: Belo Horizonte – MG. Ed. Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998.

SIGURDSSON, B. Maedi, a slow progressive pneumonia of sheep: an epizootological and pathological study. **Br. Vet. J.**, v.110, p.255–270,1954.

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.** 2003. 58f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual Ceará, Fortaleza.

SOTOMAIOR, C.; MILCZEWSKI, V. Relato de um rebanho ovino infectado pelo vírus maedi-visna no Estado do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25., 1997. **Anais...** 1997. p.179.

STRAUB, O.C. Maedi-Visna infection in sheep. History and present knowledge. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, v. 27, p.1-5, 2004.

THORMAR, H. A comparison of Visna and Maedi viruses. I. Physical, chemical and biological properties. **Res. Vet. Sci.**, v.6, p.17-129,1965.

THORMAR, H.; HELGADOTTIR, H. A comparison of Visna and Maedi viruses. II. Serological relationships. **Res. Vet. Sci.**, v.6, p.456-465,1965.

9. TRABALHO CIENTÍFICO

SOROPREVALÊNCIA DA PNEUMONIA PROGRESSIVA OVINA (MAEDI-VISNA) NA REGIÃO DE BOTUCATU – SP

E.P. Rosa, R.M. Amorim, D.O.L. Ferreira, S.B. Chiacchio, J.R. Modolo

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ, Botucatu – Universidade Estadual Paulista. Departamento de Clínica Veterinária. Cep: 18618-000, caixa postal 560, Botucatu, SP, Brasil. E-mail: rmamorim@fmvz.unesp.br

RESUMO

O presente estudo visou determinar a soroprevalência da pneumonia progressiva ovina na região de Botucatu mediante prova de imunodifusão em gel de agar (IDGA). Foram avaliadas 400 amostras de soro sangüíneo de ovinos de oito propriedades de corte, com criação em sistema semi-intensivo, de diferentes municípios da região. Nenhuma das amostras de soro foi reagente na prova de IDGA. Com base nos resultados obtidos, foi verificada uma discordância com estudos realizados em outros estados brasileiros, nos quais a prevalência da doença vem aumentando progressivamente.

Palavras-chave: Ovinos; Soroprevalência; Maedi-Visna; Pneumonia Progressiva Ovina; IDGA.

ABSTRACT

The present study aimed to verify the prevalence of the ovine progressive pneumonia in Botucatu region by means of immunodiffusion test in agar-gel. Serum samples of 400 sheep from eight specific farms for meat, with type of semi-intensive breeding of different areas. All the samples tested were negative to Maedi-Visna. With base in the obtained results, is verified a discordance when compared with other studies of other Brazilians states, where the prevalence of the disease comes increasing progressively.

Key-words: Sheep; OPP; AGID.

INTRODUÇÃO

Maedi-Visna (MV) é um nome composto usado para descrever duas doenças infecciosas de comportamento crônico e progressivo de ovinos que compartilham etiologia viral comum. *Maedi*, caracterizada por pneumonia intersticial progressiva, e *Visna*, caracterizada por leucoencefalomielite (CHRISTODOULOPOULOS, 2005).

O agente etiológico da MV é um vírus não oncogênico, pertencente à família Retroviridae, subfamília Lentivirinae, gênero Lentivírus que se relaciona antigenicamente com o vírus da Artrite-Encefalite Caprina (CAE). A MV e a CAE são denominadas recentemente de Lentivirose de Pequenos Ruminantes (LVPR) (CALLADO et al., 2001; ARAÚJO et al., 2004; de ANDRÉS et al., 2005).

Os Lentivírus são tradicionalmente considerados espécie-específicos, com tropismo por células da linhagem monocítica-fagocitária (RAVAZZOLO et al., 2001; BATISTA et al., 2004). A infecção pelo LVPR é caracterizada por alta prevalência e, geralmente, baixa morbidade. Os animais infectados, mesmo aparentemente saudáveis ou soronegativos, podem disseminar o vírus continuamente (ABREU et al., 1998). Atualmente, o colostro e o leite são considerados de primeira importância na transmissão das LVPR das fêmeas para os recém-nascidos. Isso é claramente demonstrado em programas onde se remove o neonato da fêmea e este passa a ser criado em mamadeira com colostro e leite de vaca (PETERHANS et al., 2004; BLACKLAWS et al., 2004; LEGINAGOI KOA et al., 2005).

Humanos podem contribuir para a disseminação da infecção através de roupas, sapatos e instrumentos como tesoura para casco e lâ, tosquiadeira, e reutilização de agulhas e seringas não estéreis quando no trabalho com animais infectados e não infectados (PETERHANS et al., 2004).

A infecção por LVPR, geralmente persistente e assintomática, pode causar afecção multissistêmica, de evolução geralmente crônica, com agravamento progressivo das lesões, perda de peso e debilidade até a morte (CALLADO et al., 2001; ARAÚJO et al., 2004).

No Brasil, as primeiras descrições de animais soropositivos para LVPR ocorreram no Rio Grande do Sul (MOOJEN et al., 1986). A partir de então, a doença tem sido descrita em vários Estados, especialmente em plantéis de alto padrão genético (CASTRO & MELO, 2001).

Dentre os testes sorológicos disponíveis, a imunodifusão em gel de ágar (IDGA) tem sido amplamente utilizada devido sua praticidade para execução, baixo custo e alta sensibilidade (acima de 90%) (ASSIS & GOUVEIA, 1994; ABREU et al., 1998; CALLADO et al., 2001; ALMEIDA, 2003; ARAÚJO et al., 2004; de ANDRÉS et al., 2005). O teste ELISA, considerado de custo mais elevado, apresenta sensibilidade de 92 a 100% e especificidade de 93 a 100% (de ANDRÉS et al., 2005).

Tem-se observado que a ovinocultura vem apresentando crescente participação sócio-econômica no total da atividade pecuária do país e especificamente no Estado de São Paulo, se firmando cada vez mais como alternativa à pequena e média propriedade rural. O conhecimento da prevalência dessa enfermidade na região de Botucatu, à luz da vigilância epidemiológica, contribuirá para a elaboração do controle sanitário que cumpre as normas do Programa Nacional de Sanidade de Caprinos e Ovinos (PNSCO) estabelecido pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), alicerçando uma ovinocultura de qualidade que beneficiará a todos.

O presente estudo teve como objetivos determinar a soroprevalência da Maedi-Visna em ovinos na região de Botucatu-SP e identificar os aspectos facilitadores da transmissão desta enfermidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em propriedades da região de Botucatu – SP, sendo utilizado ovinos adultos de raça e sexo variado.

Com o objetivo de se caracterizar os fatores predisponentes na transmissão da enfermidade, foram formuladas perguntas sobre confinamento, a utilização das agulhas e seringas durante as vacinações ou vermifugações, e a realização de quarentena dos animais recém introduzidos no rebanho. Na oportunidade também foram coletados dados referentes à origem dos animais e as principais doenças do rebanho.

Foram sorteados, ao acaso, oito criatórios na região de Botucatu de um total de vinte propriedades. Após ser verificado o número total de animais nas oito propriedades, foi realizada uma amostragem de 400 animais, guardando as proporções nas propriedades e considerando intervalo de confiança de 95% e 3,0% de erro amostral, segundo Sampaio (1998). Sendo assim, o número de amostras de sangue

colhidas em cada propriedade foi definido de acordo com o efetivo de cada rebanho e os animais escolhidos aleatoriamente.

Inicialmente, foram colhidos 10 mL de sangue venoso, mediante punção da veia jugular com agulha estéril em fresco sem anticoagulante. Posteriormente, os frascos foram centrifugados a 2000 rpm por dez minutos para a obtenção do soro que foi transferido para recipiente numerado e estocado a -20 °C para posterior realização da prova de IDGA para diagnóstico da MV.

A técnica utilizada foi a imunodifusão em gel de agar (IDGA), que é recomendada pela OIE (2004), sendo utilizado o kit diagnóstico de CAE produzido pelo laboratório Biovetech – Pernambuco – Brasil. A confecção e leitura das placas com gel de agarose foram realizadas segundo CASTRO et al., 1994.

Os resultados foram analisados utilizando-se estatística descritiva.

RESULTADOS

Nas 400 amostras de soro provenientes das oito propriedades estudadas a prova de imunodifusão em gel de agar mostrou-se 100% negativa para MV.

Dos questionários aplicados nas oito propriedades foram obtidas as seguintes respostas:

- No caso da primeira pergunta realizada, 100% das propriedades confinavam os animais algum momento do dia. Nessas, o rebanho era conduzido a galpões onde passavam a noite para promover conforto térmico e proteção contra ataques de predadores e furtos.
- Em relação à pergunta quanto ao uso de uma mesma agulha ou seringa em mais de um animal durante o manejo, a resposta nas oito propriedades foi sim (100%) e que esta prática era realizada rotineiramente.
- Em relação à terceira pergunta onde se visou obter dados quanto ao uso da prática de quarentena para animais recém introduzidos no rebanho, nenhuma propriedade realiza esta prática de forma satisfatória.

Quanto à origem dos animais estudados, constatou-se que em 75% (6 das 8 propriedades) os animais eram provenientes de plantéis do Estado da Bahia.

Os principais prejuízos ocasionados por doenças relatados por todos ovinocultores das propriedades estudadas foram mortalidade devido à verminose,

seguida de broncopneumonia e descartes em função da perda de tecido mamário ocasionado por mastite.

DISCUSSÃO

Baseados no resultado de 100% de negatividade das amostras, levantam algumas possibilidades. O teste de IDGA que utiliza antígeno nucleoprotéico produzido a partir de sobrenadantes de cultivo primário de células de membrana sinovial caprina, inoculadas com amostra CAEV-Cork (ABREU et al., 1998), recomendado pela OIE e MAPA para ser utilizado como medida de controle e erradicação da MV em propriedades produtoras de ovinos, foi adequado, uma vez que soro controle positivo ovino reagiu contra o antígeno presente no kit utilizado.

Segundo BLACKLAWS et al., (2004) a soroconversão pode ser tardia, se tornando positiva desde poucas semanas até mais de 2 anos pós-infecção. Este fato foi minimizado devido à utilização nesta pesquisa de animais adultos, em sua maioria matrizes que estavam nas propriedades por no mínimo 18 meses, tempo este considerado suficiente para que ocorra a soroconversão dos portadores e disseminação do vírus.

De acordo com o registro do Núcleo de criadores de Ovinos da Região de Botucatu, filiados à Associação Paulista dos Criadores de Ovinos (ASPACO), havia no momento da pesquisa 20 propriedades produtoras de ovinos instaladas nesta área. Munidos desta informação foi calculado o tamanho amostral por sorteio de oito propriedades produtoras de ovinos com o cuidado de se manter a proporcionalidade em função ao rebanho efetivo de cada uma delas. Além disso, para a coleta do sangue os animais foram selecionados aleatoriamente por ordem de saída da seringa de contenção. Com isso podemos com segurança afirmar que nossa amostra foi estatisticamente significativa.

Quanto aos fatores predisponentes para a transmissão da MV, concordamos com PETERHANS et al., (2004) que determinadas práticas de manejo favorecem a transmissão da doença. A superlotação dos barracões durante a maior parte do tempo, ou seja, das 17:00 da tarde às 9:00 horas da manhã do dia seguinte, para minimizar as perdas com furtos, ataques de animais e mesmo como medida de controle contra verminose. Tal prática de manejo é de extrema importância para o bem estar e segurança dos animais. Contudo, não podemos esquecer dos cuidados com a lotação adequada, o tipo de piso utilizado, se ele é trocado regularmente, se é realizada

desinfecção dessas instalações de forma adequada, se a ventilação do ambiente é adequada ou se há fortes correntes de ar, entre outras.

A reutilização de agulhas e seringas é outro fato que deve ser abolido da prática a campo. Rotineiramente utilizada durante as vacinações, vermifugações e demais tratamentos (como o fornecimento de medicamento de uso interno, principalmente intravenoso, intramuscular e subcutâneo), onde ocorre a contaminação dos materiais empregados com sangue que podem transportar consigo partículas infectantes. Esta prática deve ser combatida e não devem ser aceitas medidas inconsistentes como a utilização, por exemplo, de uma agulha para um determinado número de animais. Devemos pensar no prejuízo maior que é a disseminação da doença no rebanho. Outro ponto muito importante é o não cumprimento da quarentena. O local para essa prática ser realizada não pode estar próximo das instalações do plantel e principalmente não se pode permitir o contato destes com os animais em quarentena, como é comumente visto. Este ponto deve ser respeitado sob a dura pena de ter uma nova doença instalada na cabanha em questão de dias. Durante o período em que o animal estiver na quarentena, o mesmo deve ser examinado por profissional competente e, principalmente, coletadas amostras de sangue e fezes que devem ser encaminhadas a laboratórios de referência para o diagnóstico de doenças que podem ser perfeitamente evitadas de ingressar em uma criação, como é o caso da MV. Dada a importância deste fato, surpreende-nos nenhuma das propriedades estudadas manter ou realizar a quarentena de forma adequada.

Constatamos a ocorrência de broncopneumonia e mastite nas propriedades estudadas, que são relatadas como manifestações clínicas comuns MV (PÉPIN et al., 1998; CHRISTODOULOPOULOS, 2005). Nos casos de suspeita de broncopneumonia eram comuns sinais como o corrimento nasal bilateral que variava de seroso a mucopurulento, tosse produtiva, dispnéia e taquipnéia. No caso da mastite, observamos animais com inflamação da glândula mamária, perda de tecido mamário, secreção láctea com consistência, cor e odor alterado, e ainda lotes de fêmeas para descarte em função do grau de comprometimento do úbere. A prevalência destas doenças apesar das sorologias negativas para MV nos leva inferir que existe grande campo para pesquisas futuras, necessitando de maiores esforços e concentrados estudos com objetivo de determinar a real etiologia destas enfermidades, contribuindo assim para o seu controle.

O fato da maioria dos plantéis da região de Botucatu serem provenientes de regiões com animais soropositivos para MV, de acordo com trabalho de BATISTA et

al., (2004), aparentemente não contribuiu para a ocorrência de positivos neste trabalho.

Reforçamos a necessidade da continuidade do trabalho de vigilância para que o rebanho desta região continue sorologicamente negativo.

CONCLUSÃO

Todas as propriedades avaliadas, distribuídas na região de Botucatu mostraram-se negativas para MV, e por isso podemos dizer que atualmente, na região estudada, a MV não é um problema à produção de ovinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, S.R.O.; CASTRO, R.S.; NASCIMENTO, S.A.; SOUZA M.G. Produção de antígeno nucleoprotéico do vírus da artrite-encefalite caprina e comparação com o do vírus maedi-visna para utilização em teste de imunodifusão em agar gel. **Pesqui. Vet. Bras.**, v.18, p.57-60, 1998.

ALVAREZ, V.; ARRANZ, J.; DALTABUIT-TEST, M.; LEGINAGOIKOA, I.; JUSTE, R.A.; AMORENA, B.; DE ANDRÉS, D.; LUJÁN, L.L.; BADIOLA, J.J.; BERRIATUA, E. Relative contribution of colostrum from Maedi-Visna vírus (MVV) infected ewes to MVV-seroprevalence in lambs. **Res. Vet. Sci.**, v. 78, p. 237-243, 2005.

ALMEIDA, N.C. **Isolamento e identificação do vírus Maedi-Visna através de microscopia eletrônica de transmissão de animal comprovadamente soropositivo pelo IDGA**. 2003. 68f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.

ARAÚJO, S.A.C.; DANTAS, T.V.M.; SILVA, J.B.A.; RIBEIRO, A.I.; RICARTE, A.R.F.; TEIXEIRA, M.F.S. Identificação do Maedi-Visna vírus em pulmão de ovinos infectados naturalmente. **Arq. Inst. Biol.**, v.71, n.4, p.431-436, 2004.

ASSIS, A.P.M.V.; GOUVEIA, A.M.G. Evidências sorológicas de lentivírus (maedi-visna/artrite encefalite caprina) em rebanhos nos estado de MG, RJ, BA e CE. In:

CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23., 1994, Olinda. **Anais...**Olinda, 1994.

BATISTA, M.C.S.; CASTRO, R.S.; CARVALHO, F.A.A.; CRUZ, M.S.P.; SILVA, S.M.M.S.; REGO, E.W.; LOPES, J.B. Anticorpos anti-lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos integrantes de nove municípios Piauienses. **Cienc. Vet. Trop.**, v.7, n.2-3, p.75-81, 2004.

BLACKLAWS, B.A.; BERRIATUA, E.; TORSTEINSDOTTIR, S.; WATT, N.J.; DE ANDRÉS, D.; KLEIN, D.; HARKISS, G.D. Transmission of small ruminant lentiviruses. **Vet. Microbiol.**, v.101, p. 199-208, 2004.

CALLADO, A.K.; CASTRO, R.S.; TEIXEIRA, M.F.S. Lentivírus de pequenos ruminantes (CAEV e Maedi-Visna): revisão e perspectivas. **Pesqui. Vet. Bras.**, v. 21, n.3, p. 87-97, 2001.

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. **Ciênc. Vet. Tróp.**, v.4, n. 2/3, p. 315-320, 2001.

CHRISTODOULOPOULOS, G. Maedi – Visna: Clinical review and short reference on the disease status in Mediterranean countries. **Small Rumin. Res.**, v.62, p. 47-53, 2005.

de ANDRÉS, D.; KLEIN, D.; WATT, N.J.; BERRIATUA, E.; TORSTEINSDOTTIR, S.; BLACKLAWS, B.A.; HARKISS, G.D. Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. **Vet. Microbiol.**, v. 107, p. 49-62, 2005.

LEGINAGOIKOA, I.; DALTABUIT-TEST, M.; ALAVAREZ V.; ARRANZ, J.; JUSTE, R.A.; AMORENA, B.; DE ANDRÉS, D.; LUJÁN, J.J.; BERRIATUA, E. Horizontal Maedi-Visna virus (MVV) infection in adult dairy-sheep raised under varying MVV-infection pressures investigated by ELISA and PCR. **Res. Vet. Sci.**, 2005. In Press.

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. UFRGS**, v.1, p.77-78,1986.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES - OIE. **Manual of standards diagnostic tests and vaccines**. 4^a. ed. Paris:World Organization for Animal Health, 2004.

PÉPIN, M.; VITU, C.; RUSSO, P.; MORNEX, J.F.; PETERHANS, E. Maedi-Visna virus infection in sheep: a review. **Vet. Res.**, v.29, n.3-4, p.341-367,1998.

PETERHANS, E.; GREENLAND, T.; BADIOLA, J.; HARKISS, G.; BERTONI, G.; AMORENA, B.; ELIASZEWICZ, M.; JUSTE, R.A.; KRABNIG, R.; LAFONT, J.P.; LENIHAN, P.; PÉTURSSON, G.; PRITCHARD, G.; THORLEY, J.; VITU, C.; MORNEX, J.F.; PÉPIN, M. Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. **Vet. Res.**, v. 35, p.257-274, 2004.

RAVAZZOLO, A.P.; REISCHAK, D.; PETERHANS, E.; ZANONI, R. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses from Southern Brazil. **Virus Res.**, v.79, p.117-123, 2001.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal.**: Belo Horizonte – MG. Ed. Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998.

Diretrizes para autores

Os trabalhos podem ser redigidos em português, inglês ou espanhol. Os textos devem ser organizados da seguinte forma: 1- título; 2- nomes dos autores (por extenso); 3- filiação científica (informar departamento, instituto ou faculdade, universidade, CEP, cidade, estado país e e-mail); 4- resumo (na língua principal do texto e em inglês - Summary, com um máximo de 200 palavras); 5- palavras-chave (máximo de cinco, apresentadas na língua do texto e em inglês - Keywords); 6- introdução; 7- material e métodos; 8- resultados e discussão (separados se necessário); 9- conclusões; 10- agradecimentos (se necessário) e 11- referências bibliográficas, em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor e seguir a NBR 6023, da ABNT.

Itens de verificação para submissão

Como parte do processo de submissão, autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão com todas os itens listados a seguir. Serão devolvidas aos autores as submissões que não estiverem de acordo com as normas.

1. A contribuição é original, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista.
2. Os arquivos para submissão estão em formato *Microsoft Word*, *OpenOffice* ou *RTF* (desde que não ultrapasse os 2MB). O preenchimento do cadastro inclui todos os autores envolvidos, selecionando o contato principal. Atentar para o item 6 destas normas.
3. Todos os endereços de URLs no texto (Ex.: <http://www.ibict.br>) estão ativos e prontos para clicar.
4. O texto está em espaço 1,5 com linhas numeradas; usa uma fonte de 12-pontos Times New Roman; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final.
5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.
6. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos). Em caso de citação de autores, "Autor" e ano são usados na bibliografia e notas de rodapé, ao invés de Nome do autor, título do documento, etc.