

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária
Ciências Veterinárias

**Estudo da infecção pelos lentivírus dos pequenos
ruminantes em caprinos de Trás-os-Montes e
Alto Douro**

Maria Juliana Pereira

Orientador:

Professor Doutor Nuno Francisco Fonte Santa Alegria



UNIVERSIDADE DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO

VILA REAL, 2009

*"A verdadeira ciência ensina
sobretudo a duvidar e a ser ignorante."*

Miguel Unamuno

Resumo

Os lentivírus dos pequenos ruminantes (SRLV) infectam os caprinos e os ovinos e podem causar uma doença inflamatória multisistémica persistente, especialmente localizada nas articulações, glândula mamária, pulmão e SNC, caracterizada pelo seu longo período de incubação.

O presente estudo teve como objectivos a detecção serológica e cálculo de prevalência da infecção por SRLV em caprinos de Trás-os-Montes, pertencentes às raças Serrana e Bravia e também a caracterização sumária dos efectivos de caprinos, particularmente no que respeita à existência de condições para o controlo ou erradicação da doença.

Foram inquiridas 44 explorações e destas foram recolhidas amostras de forma aleatória em caprinos de 27 rebanhos, 10 de raça Bravia e 17 da raça Serrana, num total de 351 fêmeas com mais de 1 ano. Foi utilizado como método de diagnóstico serológico o teste cELISA. Foi detectada a presença de anticorpos para SRLV em 119/351 (33,9%) caprinos. A prevalência foi estimada em 36,15% na população estudada (9,10% na raça Bravia e 52,07% na Serrana). A percentagem de rebanhos com pelo menos um animal positivo foi 59,26% (82,35 % na raça Serrana e 20,0% na raça Bravia).

A análise dos resultados obtidos nos inquéritos epidemiológicos revelou que estão presentes sinais clínicos potencialmente causados pela infecção por SRLV, embora não exista uma associação estatística significativa com o estatuto positivo do rebanho. Foram detectadas várias limitações à aplicabilidade de medidas de controlo da infecção mas há todo o interesse em implementar medidas de controlo e erradicação da doença.

Abstract

Small ruminant lentiviruses (SRLV) infect goats and sheep alike and may cause an inflammatory, multisystemic persistent disease, especially located in the joints, mammary gland, lungs and the central nervous system, characterized for its long incubation period.

The present study had for objectives the serological detection and calculus of the prevalence of the infection by SRLV in goats in Trás-os-Montes, belonging to the breeds Serrana and Bravia and also the summary characterization of the goat herds, particularly in terms of the existence of conditions and interest in its control or eradication.

44 herds were inquired and from these herds samples were collected randomly from goats of 27 herds, 10 from the Bravia breed and 17 from the Serrana breed, totaling 351 females over a year old. The serological diagnostic method used was the cELISA test. The presence of antibodies for SRLV was detected in 119/351 (33,9%) goats. The prevalence was estimated in 36,15% in the studied population, 9,10% in the Bravia breed and 52,07% in the Serrana breed. The percentage of herds with at least one positive animal was 59,26% (16/27), (82,35 % in the Serrana breed and 20,0% in the Bravia breed).

The analysis of the results obtained in the epidemiological inquiries revealed that clinical signs potentially caused by the infection by SRLV are present, although there is no significant statistical association with the positive status of the herd. Some limitations to the applicability of control measures of the infection were detected; however, there is much interest in implementing control and eradication measures of the disease.

Índice

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. INTRODUÇÃO	1
1.2. ETIOLOGIA	1
1.2.1. Taxonomia	1
1.2.2. Constituição	2
1.2.3. Ciclo de replicação	3
1.2.4. Células alvo	4
1.2.5. Resistência	5
1.2.6. Análise filogenética	5
1.3. EPIDEMIOLOGIA	6
1.3.1. Distribuição geográfica e prevalência	6
1.3.2. Espécies susceptíveis	7
1.3.3. Factores de Risco	7
1.3.4. Transmissão	7
1.3.4.1. Directa	8
1.3.4.1.1. Vertical	8
1.3.4.1.2. Horizontal	8
1.3.4.2. Indirecta	9
1.3.5. Importância económica	9
1.4. PATOGENIA	11
1.5. PATOLOGIA E SINAIS CLÍNICOS	14
1.5.1. Artrite: aspectos clínicos	14
1.5.2. Artrite: alterações patológicas e histopatológicas	15
1.5.3. Mamite	16
1.5.4. Encefalite	16
1.5.5. Pneumonia	17
1.6. RESPOSTA IMUNITÁRIA	18
1.6.1. Resposta imunitária de linfócitos B	18
1.6.2. Resposta imunitária de linfócitos T	19
1.7. DIAGNÓSTICO	21
1.7.1. Diagnóstico laboratorial	21
1.7.1.1. Diagnóstico serológico	21
1.7.1.1.1. AGID	22
1.7.1.1.2. ELISA	23
1.7.1.1.3. Exames complementares: RIPA, RIA e WB	23
1.7.1.2. Identificação do agente	24
1.7.1.2.1. Isolamento do vírus	24
1.7.1.2.2. Métodos de reconhecimento de ácido nucleico	24
1.7.1.3. Dificuldades de diagnóstico	26
1.8. TRATAMENTO	26
1.9. PREVENÇÃO E CONTROLO	26
1.9.1. Programas de controlo	26
1.9.2. Vacinação	28
2. ESTUDO DA INFECÇÃO PELOS SRLV EM CAPRINOS DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO	30
2.1. INTRODUÇÃO	30
2.1.1. Objectivos	31
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	32

2.2.1. Amostras e animais.....	32
2.2.2. Provas Laboratoriais	32
2.2.2.1. Teste ELISA de competição	32
2.2.3. Inquérito epidemiológico.....	33
2.2.4. Análise de dados.....	33
2.3.RESULTADOS	34
2.3.1. Caracterização da amostra	34
2.3.2. Técnica de cELISA.....	34
2.3.3. Cálculo da Prevalência	35
2.3.3.1. Cálculo da prevalência através da técnica de cELISA.....	35
2.3.3.2. Cálculo da prevalência verdadeira.....	36
2.3.4. Caracterização da População	37
2.3.5. Análise Estatística.....	41
2.3.5.1. Comparação da idade dos animais com resultado do teste cELISA	41
2.3.5.2. Comparação de alguns resultados do inquérito epidemiológico com resultado do teste cELISA.....	42
2.4.DISSCUSSÃO	43
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
5. ANEXOS.....	66

Índice de gráficos

<i>Gráfico 1. Distribuição etária relativa dos animais estudados.....</i>	<i>34</i>
<i>Gráfico 2. Prevalência da infecção pelos SRLV obtida com recurso ao teste serológico cELISA.....</i>	<i>36</i>
<i>Gráfico 3. Prevalência da infecção pelos SRLV por rebanho na raça Serrana (cELISA).....</i>	<i>36</i>
<i>Gráfico 4. Prevalência da infecção pelos SRLV por rebanho na raça Bravia (cELISA).....</i>	<i>36</i>
<i>Gráfico 5. Percentagem de animais positivos por idade.....</i>	<i>42</i>

Índice de figuras

<i>Figura 1. Mapa distribuição das explorações visitadas (Google® Earth 2009).....</i>	<i>37</i>
--	-----------

Índice de tabelas

<i>Tabela 1 Divisão filogenética dos isolados de SRLV</i>	<i>6</i>
<i>Tabela 2. Alguns diagnósticos diferenciais a considerar no diagnóstico da infecção pelos SRLV.....</i>	<i>21</i>
<i>Tabela 3. Distribuição dos animais analisados por idade.</i>	<i>34</i>
<i>Tabela 4. Resultados serológicos apresentados por rebanho.</i>	<i>35</i>
<i>Tabela 5. Resultados serologia com teste ELISA</i>	<i>35</i>
<i>Tabela 6. Resultados serologia com teste cELISA na raça Bravia</i>	<i>35</i>
<i>Tabela 7. Resultados serologia com teste cELISA na raça Serrana</i>	<i>35</i>
<i>Tabela 8. Sinais clínicos indicativos de CAE.</i>	<i>39</i>
<i>Tabela 9. Mortalidade nos cabritos.</i>	<i>39</i>
<i>Tabela 10. Explorações com introdução de animais novos.</i>	<i>40</i>
<i>Tabela 11. As doenças que mais preocupam os caprinicultores.</i>	<i>41</i>
<i>Tabela 12. Distribuição dos resultados cELISA por idade.</i>	<i>42</i>
<i>Tabela 13. Análise de resultados do inquérito epidemiológico.....</i>	<i>68</i>
<i>Tabela 14. Distribuição geográfica das explorações.....</i>	<i>71</i>
<i>Tabela 15. Caracterização dos efectivos quanto à constituição e taxa de fertilidade</i>	<i>72</i>
<i>Tabela 16. Análise estatística.....</i>	<i>73</i>

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

% – Percentagem

χ^2 – Qui-quadrado

® – Marca Registada

°C – Graus Célsius

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AGID – Imunodifusão em gel de agar (“Agar Gel Immuno Diffusion”)

ANCABRA – Associação Nacional de Criadores de Cabra Bravia

ANCRAS – Associação Nacional de Caprinicultores da Raça Serrana

AP-1 – Proteína activadora dos factores de transcrição

ARN – Ácido ribonucleico

BIV – Vírus imunodeficiência dos bovinos (“Bovine Immunodeficiency Virus”)

CA – Proteína da cápside

CAE – Artrite-encefalite dos caprinos (“Caprine Arthritis Encephalitis”)

CAEV – Vírus da Artrite-encefalite dos caprinos (“Caprine Arthritis Encephalitis Virus”)

cELISA – ELISA de competição

CFSPH – “Center for Food Security and Public Health”

dut – Gene codificante da desoxiuridina trifosfatase

EIAV – Vírus da anemia infecciosa dos equinos (“Equine Infectious Anemia Virus”)

ELISA – Ensaio imunoenzimático (“Enzyme-linked-immunosorbent assay”)

env – Gene codificante das proteínas do invólucro

Env – Proteína do invólucro vírico, composta por subunidades TM e SU

FIV – Vírus da Imunodeficiência Felina (“Feline Immunodeficiency Virus”)

gag – Gene codificante dos antígenos específicos do grupo (“Group-specific-AntiGen”)

GM-CSF – factor estimulante de colónia de granulócitos-macrófagos

GSM – Membrana sinovial de caprinos (“goat synovial membrane”)

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana (“Human immunodeficiency virus”)

iELISA – ELISA indirecto

IFN γ – Interferão gama

IL-1 (e também **IL-1 β** , **IL-12**, **IL-4** e **IL-8**) – Interleucinas ou citocinas

IN – Integrase

LNIV – Laboratório Nacional de Investigação Veterinária

LTR – Terminações longas repetidas (“Long terminal repeats”)

MA – Proteína da matriz

MAbs – Anticorpos monoclonais

mARN – Ácido ribonucleico mensageiro

MHC - Complexo de histocompatibilidade maior (“Major histocompatibility complex”)

min – Minutos

mL – mililitros

MV – Maedi-visna

MVV – Vírus de Maedi-visna

NC – Proteína da Nucleocápside

OIE – “Office International des Épizooties”

ORFs – “Open Reading Frames”

p – Nível de probabilidade

PCR – Reação em cadeia da polimerase (“Polymerase chain reaction”)

pol – Gene codificante da polimerase

pro – Gene codificantes da protease

RIA – Radioinumoensaio (“Radioimmunoassay”)

RIPA – “Radio Immunoprecipitation Assay”

RT – Transcriptase reversa

seg – Segundos

SIV – Vírus da imunodeficiência dos símios (“Simian Immunodeficiency Virus”)

SPC – células do plexo coróide de ovinos (“sheep choroid plexus”)

SPSS – “Statistical Package for the Social Sciences”

SRLV – Lentivírus dos pequenos ruminantes (“Small ruminant lentiviruses”)

SU – Proteína de superfície, constituinte do invólucro dos retrovírus

TGF β1 – Factor de crescimento transformador beta 1 (“Transforming growth factor beta 1”)

TLRs – Receptores “toll-like”

TM – Proteína transmembranária, constituinte do invólucro dos retrovírus

TNF α – Factor de necrose tumoral alfa (“Tumor Necrosis Factor alfa”)

TNF β – Factor de necrose tumoral beta (“Tumor Necrosis Factor beta”)

WB – Imunodeteção (“Western Blot”)

Agradecimentos

Por detrás deste trabalho, esconde-se um grande número de contribuições, apoios e sugestões vindas de muitas pessoas e entidades, que a título individual ou colectivo, ajudaram à sua idealização, execução e finalização. Não podemos, portanto, deixar de expressar os nossos sinceros agradecimentos:

Ao Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro por todas as condições disponibilizadas para a realização deste trabalho.

Ao Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, na pessoa do Professor Doutor Miguel Agostinho Sousa Pinto Torres Fevereiro, Investigador Principal do LNIV, expressamos a nossa gratidão por ter possibilitado o desenvolvimento desta dissertação.

Ao Professor Doutor Nuno Francisco Fonte Santa Alegria, não só pela orientação deste trabalho, como pela ajuda, amizade, paciência para as muitas questões levantadas e pelo seu “espírito crítico científico” essencial para a aquisição de conhecimentos nesta Área.

À ANCABRA – Associação Nacional de Criadores de Cabra Bravia pela disponibilidade, interesse e colaboração neste trabalho.

À ANCRAS – Associação Nacional de Craprinicultores da Raça Serrana pela disponibilidade, interesse e colaboração neste trabalho.

Ao Professor Doutor Luís Miguel Martins Lucas Cardoso pela partilha de conhecimentos e pelo apoio imprescindível ao longo deste trabalho.

Ao Professor Doutor Filipe da Costa Silva pela partilha de conhecimentos e incentivo à investigação científica.

Ao Professor Doutor António Mário Domingues Silvestre pela disponibilidade e paciência para as questões levantadas.

Às técnicas do laboratório de Microbiologia e Parasitologia do Departamento de Ciências Veterinárias, D. Fátima Fraga e Eng. Teresa Coutinho e às técnicas da sala de meios de cultura, D. Adelaide Soares, D. Anabela Gonçalves e D. Sónia Dias, pela simpatia com que me receberam e pelo apoio na realização deste trabalho.

Pela valiosa contribuição para esta dissertação e para o meu crescimento pessoal expresso ainda o meu agradecimento:

À equipa de veterinários da área de animais de interesse pecuário e equinos do Hospital Veterinário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, pela grande contribuição para o meu crescimento pessoal e profissional.

À Alice e à “Mü” pela Amizade e disponibilidade para responder às minhas duvidas de organização deste trabalho.

À Marta pela ajuda preciosa nas traduções e revisão do texto. Um obrigado especial pela grande Amizade e apoio incansável. :D

À Eduarda e à Patrícia pela disponibilidade, Amizade e espírito crítico.

Aos meus pais e restante família, pelo carinho, pelos ensinamentos e valores que me transmitiram e pelo exemplo de Vida.

E porque todos têm o seu lugar de importância...

... fica uma lembrança aos Amigos:

Estrelinhas, Bio-FCUP, Vet-UTAD,
Gotas, CF, CNE-1096,
CALHAU, Javardolas, Frescas,
Madeira Power e Rossas city :p

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Introdução

Os lentivírus dos pequenos ruminantes (SRLV – “Small ruminant lentiviruses”) compreendem os anteriormente denominados vírus da artrite e encefalite dos caprinos (CAEV) e vírus do maedi-visna (MVV), conhecidos por causarem, respectivamente, artrite e encefalite viral dos caprinos (ou artrite-encefalite dos caprinos - CAE) e Maedi-Visna, também conhecida por pneumonia progressiva dos ovinos, ambas doenças de progressão lenta (Narayan *et al.*, 1980; Pétursson *et al.*, 1990; Straub, 2004).

A infecção por MVV foi descoberta e caracterizada em 1954 por Sigurdsson, cientista islandês que introduziu o conceito de “doença lenta” para descrever doenças induzidas por agentes infecciosos com um longo período de incubação (meses ou mesmo anos após a infecção primária) e que têm evolução progressiva depois do aparecimento dos primeiros sinais clínicos (Sigurdsson, 1954 cit. por Straub, 2004). Nos ovinos, a infecção por lentivírus pode manifestar-se sob forma neurológica, conhecida por Visna e/ou pela forma respiratória (pneumonia intersticial progressiva), conhecida por Maedi (Palsson, 1972; Straub, 2004)

Nos caprinos, a CAE foi descrita no início dos anos 70 como duas formas clínicas independentes: artrite crónica progressiva em caprinos adultos e leucoencefalomielite desmielinizante aguda nos cabritos jovens, associada a pneumonia intersticial. No entanto, o agente só foi isolado em 1980 por Crawford, a partir da membrana sinovial e do líquido cefalorraquidiano de caprinos infectados (Cork, 1974 e Crawford, 1980 cit. por Bertoni, 2007). O isolamento e a caracterização do agente levaram ao reconhecimento internacional da CAE como uma virose que permitiu as primeiras infecções experimentais, demonstrado formalmente que a encefalite, pneumonia e artrite eram ambas causadas pelo CAEV (Narayan *et al.*, 1980)

Recentemente, os estudos genéticos e filogenéticos demonstram que os dois vírus estão associados num só grupo (SRLV), sem haver uma clara distinção de estirpes entre ovinos e caprinos (Zanoni, 1998; Shah *et al.*, 2004a).

1.2. Etiologia

1.2.1. Taxonomia

O CAEV e o MVV são actualmente referidos em conjunto, constituindo o grupo dos lentivírus dos pequenos ruminantes (SRLV) e ambos pertencem ao género *Lentivirus* da família *Retroviridae* (Leroux *et al.*, 1997a; Peterhans *et al.*, 2004).

O gênero *Lentivirus* inclui ainda o vírus da imunodeficiência humana (HIV), o vírus da imunodeficiência dos símios (SIV), o vírus da imunodeficiência dos felinos (FIV), o vírus da imunodeficiência dos bovinos (BIV) e o vírus da anemia infecciosa dos equinos (EIAV) (Pasick, 1998; ICTVdB, 2006; Leroux e Mornex, 2008).

1.2.2. Constituição

Os SRLV são vírus envolvidos, os viriões são esféricos a pleomórficos, têm 80-100nm de diâmetro e uma densidade de 1,13-1,18 g/cm³ (Dahlberg *et al.*, 1981; ICTVdB, 2006). São constituídos por um *core* electrodense, rodeado por um invólucro constituído por proteínas virais e elementos da membrana celular do hospedeiro. Transportam duas moléculas pequenas (7-11 Kb) de ARN de cadeia simples com polaridade positiva, em tudo semelhantes ao mARN celular (Haziza *et al.*, 2001; Leroux e Mornex, 2008).

O genoma vírico é constituído por 4 genes principais: 5'-*gag-pro-pol-env*-3', comuns a todos os retrovírus. O gene *gag* ("group-specific-antigen") codifica as proteínas da matriz (MA), da cápside (CA) e da nucleocápside (NC), originadas a partir de uma proteína precursora denominada Gag (Clements e Zink, 1996). A MA situa-se logo abaixo do invólucro vírico ligando-se aos fosfolípidos do invólucro. A CA forma um estojo que rodeia o complexo ribonucleico e é uma proteína fortemente antigénica na maioria dos retrovírus (Ding e Xiang, 1997). A NC é uma pequena proteína básica associada ao ARN genómico e é crucial para a encapsidação do genoma viral (Lacerenza *et al.*, 2008).

O gene *pro* codifica uma protease que cliva os produtos de tradução dos genes *gag* e *pol*, com um papel importante na maturação e infecciosidade do virião (Clements e Zink, 1996).

O gene *pol* codifica as enzimas transcriptase reversa (RT) e integrase (IN), que intervêm, respectivamente, na transcrição inversa do ARN viral em ADN linear de cadeia dupla e na integração deste nas células do hospedeiro (Berger *et al.*, 2001; Hare *et al.*, 2009).

O gene *env* codifica as glicoproteínas do invólucro SU (superfície ou gp135) e TM (transmembranária), ambas derivadas de um precursor comum designado Env, tendo como função mediar a adsorção e a fusão do invólucro vírico com a membrana celular, possibilitando a penetração do *core* nas células-alvo (Hullinger *et al.*, 1993).

Alguns retrovírus têm ainda um outro gene denominado *dut*, que codifica a desoxiuridina trifosfatase (dUTPase ou DU) que, no caso dos lentivírus dos não-primatas, aparece na grelha de leitura do gene *pol*. Esta enzima é importante na replicação do vírus em células que não estejam em divisão (Turelli *et al.*, 1996; Turelli *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 2003).

O genoma dos retrovírus tem também regiões não codificantes nas terminações do genoma, essenciais para a replicação do vírus: duas regiões R repetidas nas duas terminações, uma região U5 na terminação 5' e uma U3 na terminação 3'. Estas regiões, após a transcrição inversa, dão origem às extremidades do genoma do provírus denominados LTR ("long terminal repeats") compostos pelos três fragmentos U3-R-U5 (Leroux e Mornex, 2008). As zonas LTR podem ter tamanhos variáveis, servem de local de início da transcrição, contêm diversos elementos importantes para o tropismo celular do vírus, bem como os promotores virais e a "TATA box" (Hess *et al.*, 1986; Sherman *et al.*, 1989; Barros *et al.*, 2005; Angelopoulou *et al.*, 2006; Angelopoulou *et al.*, 2008).

Tal como outros lentivírus, os SRLV têm um genoma complexo caracterizado pela presença de ORFs ("open reading frames") correspondentes a genes adicionais: *tat*, *rev* e *vif*, localizados entre os genes *env* e *pol* e na terminação 3', que codificam proteínas não estruturais com funções de regulação (Leroux e Mornex, 2008). A proteína Rev regula a expressão genética dos genes *gag*, *pol* e *env*, sendo assim indispensável para uma replicação viral eficiente (Schoborg e Clements, 1996; Schoborg, 2002; Abelson e Schoborg, 2003). A proteína Tat nos SRLV, tem a capacidade de bloquear o progresso do ciclo celular em G2 (função semelhante ao gene *vpr* do HIV) e não é essencial para a replicação do vírus (Harmache *et al.*, 1995; Villet *et al.*, 2003a; Villet *et al.*, 2003b). Por fim, o gene *vif* ("virion infectivity factor") é essencial para uma replicação eficiente do vírus (Harmache *et al.*, 1995; Harmache *et al.*, 1996). Estudos recentes mostram que *vif* interage com as proteínas celulares (Seroude *et al.*, 2001; Seroude *et al.*, 2002), sugerindo que, em analogia ao seu homólogo do HIV, esta proteína pode estar envolvida na protecção do genoma vírico contra as citidina-desaminases celulares (Kristbjörnsdóttir *et al.*, 2004; Holmes *et al.*, 2007).

1.2.3. Ciclo de replicação

O ciclo de replicação viral inicia-se pela adsorção e penetração do vírus na célula do hospedeiro. A entrada na célula é mediada pela interacção entre as glicoproteínas do virião e receptores específicos das células do hospedeiro (Clements e Zink, 1996; Hotzel e Cheevers, 2001; 2002). Após a fusão com a membrana celular a NC fica exposta ao ambiente intracelular e inicia-se a replicação do genoma viral no citoplasma, com a transcrição inversa do ARN genómico do virião em ADN pela enzima transcriptase reversa (RT). A enzima RT dos lentivírus tem uma baixa fidelidade, devido à falta do mecanismo de correcção de erros (actividade de "proof-reading"), o que contribui para a elevada taxa de mutação comum nestes agentes (Clements e Zink, 1996; Leroux e Mornex, 2008). A cadeia de ADN proviral forma um

complexo com a Integrase e é transportada para o núcleo da célula onde é integrada no genoma celular pela acção desta enzima (Hare *et al.*, 2009).

Após a integração no genoma do hospedeiro, os retrovírus podem ficar latentes sem produção de proteínas ou partículas virais. A expressão do vírus é regulada pelo nível de actividade celular e a transcrição depende de factores de transcrição presentes na célula. No caso dos SRLV, as LTRs contêm sinais para o início da transcrição, bem como locais de ligação para AP-1, AP-2 e AML (Clements e Zink, 1996). A activação do promotor do CAEV pode ainda ser induzida por TNF α e GM-CSF, independente de AP-1 (Murphy *et al.*, 2006; Murphy *et al.*, 2007) e pelo interferon- γ (IFN- γ) (Tong-Starksen *et al.*, 1996; Sepp e Tong-Starksen, 1997).

Com a activação da transcrição do genoma viral, o provírus é transcrito em mARN pela ARN polimerase II celular, dando origem ao genoma do vírus e às diversas unidades constituintes do virião (Leroux e Mornex, 2008). Segue-se a reunião dos componentes (“assembly”) e por fim a libertação de viriões maduros pela célula hospedeira que arrastam consigo constituintes do citoplasma e membrana citoplasmática das células do hospedeiro (Haziza *et al.*, 2001).

1.2.4. Células alvo

Os SRLV infectam principalmente células da linhagem dos monócitos/macrófagos (Klevjer-Anderson e Anderso, 1982; Clements *et al.*, 1994). A expressão genética do vírus é restrita em monócitos, mas activada quando monócitos se diferenciam em macrófagos (Narayan *et al.*, 1983; Gendleman *et al.*, 1985; Gendleman *et al.*, 1986; Brodie *et al.*, 1995).

Além dos macrófagos, vários tipos de células são permissíveis à infecção por CAEV tanto *in vivo* como *in vitro*, com as células da membrana sinovial (Zink *et al.*, 1990), plexo coróide e microglia (Sanna *et al.*, 1999; Singh *et al.*, 1999), células epiteliais da granulosa e do oviducto (Lamara *et al.*, 2001; Lamara *et al.*, 2002b), células epiteliais da glândula mamária (Lerondelle *et al.*, 1995; Mselli-Lakhal *et al.*, 1999; Singh *et al.*, 1999; Bolea *et al.*, 2006), células epiteliais do sistema respiratório (Singh *et al.*, 1999) e endotélio (Milhau *et al.*, 2003; Lechat *et al.*, 2005).

As estirpes SRLV podem ser classificadas de acordo com sua taxa de replicação *in vitro*, fenótipo rápido/alto (“rapid/high”) ou lento/baixo (“slow/low”). As estirpes com fenótipo rápido/alto replicam-se rapidamente, induzindo lise celular e atingindo altos títulos. Pelo contrário, as estirpes com fenótipo lento/baixo replicam-se lentamente e com baixos títulos. Em geral, as estirpes isoladas de ovinos pertencem ao primeiro tipo, enquanto que as isoladas de caprinos são do fenótipo lento/baixo. No entanto, existem estirpes que foram isoladas de ovinos e caprinos que apresentam fenótipos intermédios (Querat *et al.*, 1984; Barros *et al.*, 2004; Glaria *et al.*, 2009).

A mesma célula e o mesmo animal podem ser infectados por mais do que uma estirpe de SRLV. Esta capacidade de co-infecção pode ser importante na história natural destes vírus, fornecendo as condições ideais para o desenvolvimento de novas estirpes recombinantes (Jolly e Narayan, 1989; Pisoni *et al.*, 2007).

1.2.5. Resistência

Os SRLV são sensíveis à maior parte dos desinfetantes comuns, devido ao envoltório lipoproteico do virião. Deste modo, soluções com detergentes, compostos fenólicos e de amónio quaternário, bem como formol a 0,4%, hipoclorito éter, clorofórmio e tripsina, inactivam estes agentes, tal como o pH abaixo de 4,2 ou acima de 9,4, o calor (56°C) e a inactivação fotodinâmica. Estes dois últimos métodos podem ser aplicados na inactivação dos viriões em leite e colostro de animais infectados (Palsson, 1972; Narayan e Cork, 1990; Washburn *et al.*, 2001; ICTVdB, 2006).

1.2.6. Análise filogenética

Habitualmente, o CAEV e MVV eram considerados como vírus relacionados, com propriedades morfológicas e antigénicas muito semelhantes, embora geneticamente distintos (Dahlberg *et al.*, 1981; Roberson *et al.*, 1982; Pyper *et al.*, 1984; Pyper *et al.*, 1986). Contudo, a análise filogenética mais detalhada, mostra que as divergências entre diferentes regiões do genoma destes vírus variam entre 16, 22 e 35%, para fragmentos *gag*, *pol* e LTR respectivamente, revelando a existência de 6 grupos (I a VI) sem clara separação entre lentivírus dos ovinos e dos caprinos (Zanoni, 1998; Rolland *et al.*, 2002).

Posteriormente, foi proposta uma nova classificação (Tabela 1), baseada em sequências *gag* e *pol* (Shah *et al.*, 2004a), que divide os SRLV em quatro grupos principais A a D. O grupo A corresponde ao tipo heterogéneo MVV e pode ainda ser subdividido em sete distintos subtipos, designados A1 a A7. O grupo B refere-se ao tipo CAEV, geneticamente menos complexo, compreendendo apenas duas linhagens distintas, denominadas subtipos B1 e B2. Os outros dois grupos, C e D, foram identificados com base na grande divergência genética dos dois grupos anteriores, mas ainda não estão plenamente descritos. Esta é uma classificação aberta, que permitiu posteriormente acrescentar dois novos subtipos, A8 e A9, e um novo grupo, E (Grego *et al.*, 2007).

O estudo detalhado das sequências genéticas, revela que não há segregação filogenética em lentivírus de caprinos e de ovinos dentro do grupo dos SRLV, indicando que estes são capazes de ultrapassar a barreira da espécie em condições naturais (Karr *et al.*, 1996; Leroux *et al.*, 1997a; Zanoni, 1998; Castro *et al.*, 1999; Grego *et al.*, 2002; Rolland *et al.*, 2002). Estudos recentes

confirmaram que existe transmissão interespécies de estirpes dos grupos A, B e C. Os subtipos B1 e B2 (Shah *et al.*, 2004a; Pisoni *et al.*, 2005; Germain e Valas, 2006; Grego *et al.*, 2007; Glaria *et al.*, 2009), assim como os subtipos A1, A3, A4, A6 e A9 (Shah *et al.*, 2004a; Shah *et al.*, 2004b; Grego *et al.*, 2007; Pisoni *et al.*, 2007) e também os grupos C (Gjerset *et al.*, 2007; Gjerset *et al.*, 2008) e D (Reina *et al.*, 2006), já foram isolados tanto em ovinos como em caprinos, o que sugere que nenhum subtipo é particularmente propenso a ultrapassar a barreira da espécie. Porém, o subtipo A2 foi isolado apenas em ovinos e os subtipos A5, A7 e A8 e o grupo E apenas em caprinos (Shah *et al.*, 2004a; Grego *et al.*, 2007).

Em rebanhos mistos pode circular mais do que um subtipo de vírus (Grego *et al.*, 2007) e pode haver co-infecção e recombinação de MVV e CAEV em cabras infectadas naturalmente (Pisoni *et al.*, 2007).

Tabela 1 Divisão filogenética dos isolados de SRLV (adaptada de Shah *et al.*, 2004; Grego *et al.*, 2007)

Novo Grupo	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	B1	B2	C	D	E
Grupo (Zanoni, 1998)	I	II				VI				V	IV	III		
Isolado de ovinos	Sim MVV-like	Sim	Sim	Sim	--	S	--	--	Sim	Sim CAEV _{Cork} -like	Sim	Sim	--	--
Isolado de caprinos	Sim	--	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim

1.3. Epidemiologia

1.3.1. Distribuição geográfica e prevalência

Os SRLV foram identificados na maioria dos países onde a caprinicultura e a ovinicultura são actividades económicas importantes. O CAEV é comum em caprinos de leite nos países mais industrializados e raramente é encontrado em raças autóctones de países em desenvolvimento, a menos que estas tenham contactado com caprinos importados (CFSPH, 2007; Fevereiro, 2009).

Os rastreios serológicos e os relatos de casos de doença clínica indicam que a infecção de caprinos é comum em muitos países, apresentando prevalências muito diversificadas (Crawford e Adams, 1981; Adams *et al.*, 1984; East *et al.*, 1987; Cutlip *et al.*, 1992; Contreras *et al.*, 1998; Daltabuit Test *et al.*, 1999).

Em Portugal, os estudos serológicos realizados mostram uma prevalência elevada (22,8 e 34,4%) em ovinos e não há dados de caprinos. No entanto já foram isoladas várias estirpes em ovinos e caprinos, duas delas foram completamente sequenciadas (P1OLV e CLV-5516P) (Barros *et al.*, 2004; Fevereiro e Barros, 2004; Fevereiro, 2009).

1.3.2. Espécies susceptíveis

Tradicionalmente, os caprinos eram considerados os hospedeiros naturais da infecção por CAEV e os ovinos do MVV. No entanto, os ovinos podem ser infectados experimentalmente com CAEV e caprinos com MVV (Banks *et al.*, 1983; Jolly e Narayan, 1989). De qualquer forma, estudos genéticos e filogenéticos recentes indicam que ambos os vírus estão disseminados tanto em ovinos como caprinos, mostrando que a transmissão cruzada entre espécies é possível em condições naturais (Chebloune *et al.*, 1996a; Rolland *et al.*, 2002; Shah *et al.*, 2004b; Pisoni *et al.*, 2005; Denner, 2007).

A infecção por SRLV foi também detectada em ruminantes selvagens e híbridos destes com os domésticos. Contudo, a sequenciação das estirpes isoladas em *Capra ibex* dos Alpes franceses sugere que os agentes, embora filogeneticamente próximos, podem constituir variantes distintas de CAEV e MVV (Guiguen *et al.*, 2000; CFSPH, 2007; Erhouma *et al.*, 2008).

Os bovinos também podem ser infectados experimentalmente por SRLV. Há seroconversão e o vírus pode ser isolado do sangue, mas os animais conseguem fazer “clearance” do vírus após 4 meses da infecção (Morin *et al.*, 2003; Mselli-Lakhal *et al.*, 2007).

1.3.3. Factores de Risco

A doença afecta animais de ambos os sexos, várias raças e idades (Grewal e Burton R. W. , 1986). A doença é bastante referida nas raças de leite: Alpina, Nubiana, Saanen, Toggenburg, em algumas raças de carne: Angorá e Caxemira e também em raças autóctones que tiveram contacto com cabras europeias importadas (Contreras *et al.*, 1998; Torres-Acosta *et al.*, 2003).

Os SRLV afectam animais de várias idades, mas como o tempo de exposição é um factor muito importante para a seroconversão, existe maior seroprevalência em animais mais velhos, embora a prevalência também possa ser elevada em animais jovens de alguns rebanhos (East *et al.*, 1987; Snowden *et al.*, 1990; Greenwood, 1995).

1.3.4. Transmissão

As principais vias de transmissão de SRLV são a ingestão de colostro ou leite contaminado e o contacto directo entre animais infectados (Fevereiro, 2009). No entanto, existem outras vias de transmissão potenciais, embora não esteja completamente esclarecida a sua importância efectiva na transmissão do vírus (Blacklaws *et al.*, 2004).

1.3.4.1. Directa

1.3.4.1.1. Vertical

A hipótese de infecção pela linha germinal é baseada na existência de inúmeros retrovírus endógenos integrados no genoma do hospedeiro. Embora os SRLV se integrem no genoma do hospedeiro, não existem estudos que provem que o genoma dos SRLV esteja presente nas linhas germinais (Blacklaws *et al.*, 2004).

A infecção transplacentária/intra-uterina é das vias de transmissão mais controversas. Dados sugerem que a transmissão pode ocorrer, contudo a contribuição relativa desta via para a taxa de infecção permanece desconhecida (Blacklaws *et al.*, 2004). As primeiras evidências desta via de infecção advêm de diversos estudos que demonstraram infecção por SRLV em animais privados de contacto maternal desde o nascimento e alimentados com colostro tratado termicamente ou de origem bovina (Adams *et al.*, 1983; Brodie *et al.*, 1994). Recentemente, vários estudos demonstram a existência de SRLV no ambiente intra-uterino e tracto genital da fêmea (Fieni *et al.*, 2003), que poderá ser uma fonte de infecção para o embrião ou feto. O CAEV foi isolado de células do *cumulus oophorus* (Ali Al Ahmad *et al.*, 2005) e replica eficientemente, *in vitro*, em células da granulosa e células do oviducto (Lamara *et al.*, 2001; Lamara *et al.*, 2002b). Os embriões de caprinos nos estágios iniciais de desenvolvimento podem ser infectados se a zona pelúcida não estiver intacta (Lamara *et al.*, 2002a; Ali Al Ahmad *et al.*, 2006).

1.3.4.1.2. Horizontal

O comércio de animais vivos entre países é considerado como uma importante causa de transmissão horizontal de SLRV entre efectivos. A exportação de raças europeias de caprinos e ovinos resultou na disseminação mundial de SRLV (Contreras *et al.*, 1998; Torres-Acosta *et al.*, 2003).

A transmissão através da ingestão de colostro e leite foi alvo de muitos estudos e constitui uma das mais importantes vias de transmissão de SRLV das mães infectadas para os cabritos (Adams *et al.*, 1983; Ellis *et al.*, 1986; East *et al.*, 1987; Cheevers *et al.*, 1988; Peretz *et al.*, 1994). O leite e colostro de animais infectados contêm vírus, presentes em macrófagos e células epiteliais da glândula mamária (Leroux *et al.*, 1997b; Mselli-Lakhal *et al.*, 1999; Mselli-Lakhal *et al.*, 2001; Le Jan *et al.*, 2005). A prática de alimentar os cabritos de colostro ou leite de “pools” aumenta o risco de transmissão (Dawson e Wilesmith, 1985).

A transmissão por contacto próximo entre animais através de aerossóis com origem no tracto respiratório é particularmente importante em ovinos. A evidência recente da transmissão cruzada de SRLV entre ovinos e caprinos vem realçar a importância desta via de transmissão (Blacklaws *et al.*, 2004; Peterhans *et al.*, 2004).

A importância relativa do contacto próximo e ingestão de colostro e leite na transmissão de SRLV é controversa. Essa importância relativa pode depender do tropismo das diferentes estirpes de SRLV para os diferentes órgãos. O contacto próximo terá maior importância nas estirpes que afectam mais os pulmões, como as “MVV-like” (Berriatua *et al.*, 2003; Blacklaws *et al.*, 2004; Peterhans *et al.*, 2004).

A transmissão sexual tem sido estudada, embora não existam provas consistentes sobre a eficácia desta via de transmissão (Adams *et al.*, 1983; Blacklaws *et al.*, 2004). O vírus tem sido detectado em vários locais do tracto genital do macho: testículos, epidídimo, ampola, vesícula seminal, próstata e glândulas bulbouretrais (Ali Al Ahmad *et al.*, 2008b; Peterson *et al.*, 2008) e no sémen de animais infectados (Travassos *et al.*, 1999). Contudo, a possibilidade de transmissão ainda não é levada em conta na produção de sémen (Thibier e Guerin, 2000).

1.3.4.2. Indirecta

A transmissão do vírus através de embriões infectados continua a ser uma possibilidade, embora não exista evidência que a transferência de embriões constitua uma via de transmissão efectiva deste agente (Fieni *et al.*, 2002, 2003; Ali Al Ahmad *et al.*, 2008a). No entanto, recomenda-se que os embriões sejam provenientes de rebanhos seronegativos (Blacklaws *et al.*, 2004).

O mau maneio e más práticas de higiene durante a ordenha podem desempenhar um papel importante na transmissão do CAEV, através do contacto com equipamentos de ordenha ou instalações contaminadas (Greenwood, 1995). Contudo, são poucos os estudos relativos a esta questão (Adams *et al.*, 1983; Lerondelle *et al.*, 1995).

A transmissão por produtos animais é uma possibilidade teórica, tal como a via iatrogénica, mas não existem estudos aprofundados sobre estas questões (Blacklaws *et al.*, 2004).

1.3.5. Importância económica

Presume-se que as perdas económicas causadas pela infecção por SRLV sejam significativas, já que os estudos realizados revelam informações incompletas ou mesmo contraditórias. Tal facto deve-se, em grande medida, à complexidade da interacção destes agentes com os seus hospedeiros, ao desconhecimento de vários aspectos da doença e à existência de práticas de maneio muito variadas (Peterhans *et al.*, 2004).

Os prejuízos económicos devem-se à grande capacidade de disseminação nas explorações intensivas, às dificuldades de erradicação e às quebras produtivas (Leitner *et al.*, 2009), além de haver entraves ao comércio internacional de animais positivos ou provenientes de rebanhos com estatuto positivo (CFSPH, 2007; OIE, 2008).

A doença é crónica e progressiva, levando a baixas na produtividade do animal e à redução da sua vida útil, com consequente aumento da taxa de refugo na exploração. No caso particular dos caprinos, uma porção considerável dos refugados apresenta geralmente artrites ou lesões no úbere (Malher *et al.*, 2001).

As mamites causadas pelos SRLV, geralmente do tipo crónico, têm impacto negativo na produção de leite, com uma diminuição da produção estimada entre 10 a 15% (Krieg e Peterhans, 1990; Greenwood, 1995). Para alguns autores, a diminuição da produção só é visível nas cabras seropositivas na primeira lactação (Leitner *et al.*, 2009), enquanto que outros encontraram prejuízos nos animais com mais de 2 anos (Nord e Adnoy, 1997).

No que diz respeito aos parâmetros de qualidade do leite, os estudos embora algo discordantes, apontam para alterações na proteína, gordura e lactose e apoiam um aumento na contagem de células somáticas (Ryan *et al.*, 1993; Nord e Adnoy, 1997; Bergonier *et al.*, 2003; Turin *et al.*, 2005).

A relação entre a infecção por SRLV e outras infecções concomitantes também tem sido estudada. O CAEV predispõe à infecção mamária por *Staphylococcus epidermis* (Contreras *et al.*, 1999) e pode também estar relacionado com o aumento da incidência de outras infecções da glândula mamária (Smith e Cutlip, 1988; Ryan *et al.*, 1993; Greenwood, 1995; Sánchez *et al.*, 2001).

Alguns autores encontraram uma redução do peso das crias ao nascimento e da sua taxa de crescimento, tendo assim um impacto negativo na produtividade da geração seguinte (Greenwood, 1995), enquanto que noutros estudos tal facto não pode ser comprovado (Snowder *et al.*, 1990; Arsenault *et al.*, 2003).

A mortalidade provocada pela infecção por SRLV é geralmente baixa nas regiões onde a doença ocorre de forma endémica e é influenciada pela ocorrência de doenças concomitantes, pela nutrição e por factores ambientais. No entanto, observações feitas por Sigurdson e colaboradores, em 1952, durante epidemias de Maedi-Visna na Islândia, mostraram taxas de mortalidade que atingiram 20 a 30% em animais recentemente infectados em rebanhos indemes (Peterhans *et al.*, 2004).

1.4. Patogenia

Os lentivírus causam uma infecção multissistêmica persistente de desenvolvimento lento e progressivo, que resulta da interacção do vírus com as defesas do hospedeiro (Haase, 1986).

A exposição de caprinos e ovinos aos SRLV resulta numa infecção das células do sistema monocítico-macrofágico (Klevjer-Anderson e Anderso, 1982). Os animais desenvolvem um nível baixo de viremia, em que o vírus está associado quase exclusivamente aos monócitos (Narayan e Cork, 1990; Juste *et al.*, 1998). Estas células são responsáveis pela disseminação do vírus pelo organismo, onde ocorre a diferenciação em macrófagos, criando-se então as condições para a activação da replicação do vírus e transmissão a outras células (Narayan *et al.*, 1982). Como consequência estabelece-se uma resposta imunitária activa que não é eficiente, contribuindo para uma infecção persistente do hospedeiro e desenvolvimento das lesões (Haase, 1986).

A persistência e disseminação do vírus, apesar de haver uma resposta imunitária forte e sustentada por parte do hospedeiro, bem como a origem e evolução lenta da doença, constituem questões centrais da patogénese da doença (Haase, 1986) e, apesar de serem alvo de vários estudos científicos, permanecem em grande parte sem resposta (Bertoni, 2007).

Os mecanismos desenvolvidos pelos lentivírus para a persistência da infecção no organismo incluem: (1) integração do provírus no genoma celular de monócitos, não sendo detectado pelo sistema imunitário até que ocorra activação da expressão genética viral aquando da diferenciação em macrófagos; (2) restrição da replicação genética *in vivo*; (3) falha na resposta em anticorpos neutralizantes e aparecimento de variantes antigénicas do vírus (Narayan e Clements, 1989).

Após a entrada na célula, o genoma vírico é transcrito de forma inversa e integrado no ADN da célula hospedeira sob a forma de provírus. Este permanece em latência e não é detectado pelo sistema imunitário do hospedeiro até ser activada a expressão genética. As células infectadas são maioritariamente da linha monocítica-macrofágica (Anderson *et al.*, 1983). Os precursores desta linha celular, presentes na medula óssea, parecem ter um papel mínimo na infecção por SRLV, embora seja possível encontrar proteínas virais em adipócitos, fibrócitos e células endoteliais na medula óssea que podem funcionar como reservatório do vírus. Os monócitos são infectados depois de terem deixado a medula óssea (Narayan *et al.*, 1983; Gendelman *et al.*, 1985; Grossi *et al.*, 2005). As células dendríticas (Ryan *et al.*, 2000) e os linfonodos podem também ter um papel importante, uma vez que a linfadenopatia e a hiperplasia folicular nos gânglios linfáticos podem ser observadas após a infecção natural e experimental (Narayan e Clements, 1989).

A restrição da replicação do vírus *in vivo* constitui uma importante estratégia para escapar à resposta imunitária e persistir no hospedeiro infectado (Gendelman *et al.*, 1985). Os mecanismos desta restrição não estão bem esclarecidos. A hipótese inicial da restrição da replicação por uma eficiente resposta imunitária do hospedeiro foi afastada uma vez que a imunossupressão de ovinos infectados atenua a resposta inflamatória e as lesões dos tecidos nos animais, mas não aumenta a carga viral (Narayan e Cork, 1990).

Por outro lado, foram propostos como importantes factores de restrição da replicação de SRLV *in vivo* as citocinas interferão tipo 1, da imunidade inata e um “interferon-like soluble factor” libertado por células T após o contacto com MHC de macrófagos infectados (Narayan *et al.*, 1985; Zink e Narayan, 1989). No entanto, embora sensíveis ao efeito inibidor do interferão, a replicação dos SRLV ainda ocorre de forma importante, mesmo na presença desses factores antivirais (Zink e Narayan, 1988; Juste *et al.*, 2000).

A replicação do vírus *in vivo* pode também ser restringida devido à disponibilidade selectiva de factores de transcrição que regulam a replicação viral em determinadas células, explicando a razão pela qual os SRLV se replicam em macrófagos diferenciados residentes nos tecidos, enquanto que a replicação nos monócitos circulantes é restrita (Narayan *et al.*, 1983; Brodie *et al.*, 1995).

Esta restrição da replicação do vírus em monócitos levou à proposta da hipótese “Cavalo de Tróia” para a forma de propagação do vírus, a qual propõe que os monócitos com infecção latente actuem como um “Cavalo de Tróia”, capazes de transportar o vírus para diversos órgãos-alvo de um modo invisível para o sistema imunitário. Nos órgãos, após a diferenciação dessas células em macrófagos, os factores de transcrição necessários ficam disponíveis, podendo iniciar-se desta forma a replicação do vírus (Peluso *et al.*, 1985; Haase, 1986).

Fica por explicar a razão pela qual existe restrição da replicação do vírus nos animais com infecção persistente, ao contrário do que acontece quando essas células são cultivadas, como é o caso das células da membrana sinovial de caprinos ou ovinos, células do plexo coróide ou macrófagos que são capazes de sustentar uma taxa de replicação elevada *in vitro* (Klevjer-Anderson *et al.*, 1984; Gendelman *et al.*, 1985).

A replicação activa ocorre preferencialmente em populações de macrófagos de determinados tecidos. Isto pode estar relacionado com factores genéticos do hospedeiro que regulam o grau de expressão genética viral em determinados tipos de células e órgãos, influenciando assim, a especificidade das lesões (Brodie *et al.*, 1995).

A infecção de macrófagos, importantes células da resposta imunitária inata, faz com que a resposta do sistema imunitário dos animais infectados desempenhe um papel crucial na patogenia. Nos tecidos-alvo, os macrófagos infectados, onde ocorre replicação activa do vírus, possibilitam o processamento e apresentação de antígenos e por outro lado transmitem o vírus às células desses tecidos por contacto (Narayan *et al.*, 1982; Singh *et al.*, 1999).

As células que permitem a entrada do vírus são variadas. No entanto, o papel dessas células na patogenia da doença é bastante discutível. As diferentes investigações são discordantes quanto à replicação activa, latência do vírus ou função das células como “reservatório” do vírus (Gendleman *et al.*, 1985; Zink *et al.*, 1990; Brodie *et al.*, 1995; Lerondelle *et al.*, 1995; Storset *et al.*, 1997; Sanna *et al.*, 1999; Ryan *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2000; Patrick *et al.*, 2002; Carrozza *et al.*, 2003; Milhau *et al.*, 2003; Lechat *et al.*, 2005; Milhau *et al.*, 2005; Bolea *et al.*, 2006).

Por outro lado, a relevância biológica destas células na persistência do vírus no hospedeiro deve ser interpretada com cautela, devido ao baixo número de células infectadas e expressão restrita de antígenos virais (Storset *et al.*, 1997; Grossi *et al.*, 2005).

A apresentação de antígenos constitui um estímulo da resposta inflamatória com chamada de células ao local, induzindo uma resposta celular e humoral activa/forte, mas que não é efectiva. Isso pode ser explicado pela falha na resposta de anticorpo, por fraca indução de anticorpos neutralizantes ou por baixa afinidade destes na ligação ao antígeno, ou ainda pela variação antigénica do agente com alteração das glicoproteínas de superfície (McGuire *et al.*, 1988).

A falha na eliminação do vírus permite que este se continue a replicar no organismo o que leva a um estímulo contínuo do sistema imunitário pela produção persistente de antígenos virais. A resposta do sistema imunitário, bem como a formação de imunocomplexos, contribuem para a progressão da doença (Narayan *et al.*, 1982; Jolly *et al.*, 1989; Kennedy-Stoskopf *et al.*, 1989; Knowles *et al.*, 1990; Bertoni *et al.*, 1994; Brodie *et al.*, 1995).

As alterações patológicas são, na maior parte, mediadas indirectamente pela resposta imunitária do hospedeiro, resultado da alteração da actividade ou produção de citocinas, produzidos pelos macrófagos infectados, levando à proliferação ou supressão patológica de subconjuntos de células linfóides (Narayan e Clements, 1989; Lechner *et al.*, 1996; Lechner *et al.*, 1997b; Patrick *et al.*, 2002; Sharmila *et al.*, 2002).

Um aspecto determinante é a presença de elevados níveis de interferão (IFN), resultantes da interacção dos linfócitos T com os macrófagos infectados, causando reforço na expressão de antígenos nos macrófagos, com aumento da expressão dos genes MHC classe II, levando a

maior proliferação de células linfocitárias, redução na replicação do vírus nos macrófagos e a uma inibição da maturação dos monócitos, contribuindo assim para a persistência do vírus no organismo (Zink *et al.*, 1987; Narayan *et al.*, 1988; Zink e Narayan, 1988, 1989; Patrick *et al.*, 2002).

A activação de células apresentadoras de antígeno pode, inadvertidamente, levar à apresentação de antígenos “self” e conduzir a uma resposta auto-imune (Narayan e Clements, 1989).

A lesão patológica básica em todos os órgãos afectados consiste numa inflamação crónica activa, com infiltração e proliferação de células inflamatórias, juntamente com a necrose da população de células normais dos tecidos (Adams *et al.*, 1980b). As células inflamatórias incluem monócitos-macrófagos, linfócitos T citotóxicos, plasmócitos e acumulação folicular de células linfóides (Zink *et al.*, 1990; Wilkerson *et al.*, 1995; Patrick *et al.*, 2002).

A manifestação de doença clínica, bem como a frequência e gravidade de lesões, parecem estar associadas a factores individuais do genoma do hospedeiro (Ruff e Lazary, 1988; Ruff *et al.*, 1993; Dolf e Ruff, 1994), à expressão genética e título de vírus e ao título de anticorpos (Klevjer-Anderson *et al.*, 1984; Cheevers *et al.*, 1988; Knowles *et al.*, 1990; Davies *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 2000; Ravazzolo *et al.*, 2006).

1.5. Patologia e Sinais clínicos

A infecção por SRLV é normalmente persistente e assintomática, de evolução geralmente crónica, com agravamento progressivo das lesões, perda de condição corporal e debilidade até à morte, que pode ocorrer meses ou anos após a infecção primária, como consequência de infecções secundárias (Palsson, 1972; Crawford *et al.*, 1980).

Do ponto de vista clínico e histopatológico, as apresentações clínicas da infecção por SRLV podem ser classificadas em quatro formas básicas: encefalite, artrite, pneumonia e mamite (Narayan e Cork, 1990; Pétursson *et al.*, 1990). Além dessas formas, há registo de alterações inflamatórias e degenerativas nos rins, proliferação de células linfóides no baço, linfonodos e sinusóides hepáticos (Crawford *et al.*, 1980).

1.5.1. Artrite: aspectos clínicos

A principal manifestação da doença clínica em caprinos adultos é a artrite, especialmente nas articulações do carpo, o que lhe valeu o nome de “doença dos joelhos grandes” (do inglês “big knees disease”) (Crawford *et al.*, 1980; Narayan e Cork, 1990; Zink *et al.*, 1990).

A associação frequente da doença a indivíduos pertencentes a uma mesma família levou à suspeita de origem hereditária. Actualmente, esta característica “familiar” é explicada pela transmissão através do leite e/ou colostro infectado (Narayan e Cork, 1990; Rowe e East, 1997).

Clinicamente, a artrite é caracterizada por um início insidioso, de carácter progressivo, evoluindo durante meses a anos (Cheevers *et al.*, 1988). A progressão da doença leva a uma inflamação crónica proliferativa, geralmente simétrica e com carácter permanente nas diversas articulações. A manifestação mais precoce e proeminente ocorre nas articulações do carpo e, em menor extensão, no tarso, falanges, articulação femurotibial e mais raramente nas articulações supraespinhosas e atlanto-ocipital (Crawford *et al.*, 1980; von Bodungen *et al.*, 1998).

Dependendo da gravidade da doença, os animais afectados mostram sinais variados, desde claudicação, relutância ao movimento, diminuição da amplitude dos movimentos articulares, rigidez e dor articular e incapacidade de manter em pé numa fase mais tardia. Por vezes, os animais afectados caminham com os membros anteriores dobrados ao nível da articulação do carpo (sobre os “joelhos”) e permanecem em decúbito por longos períodos, o que pode originar ulcerações na pele, abscessos e osteomielite. A diminuição da locomoção e marcha anormal conduzem frequentemente ao sobrecrecimento e deformação dos cascos (Crawford *et al.*, 1980).

Excepto em casos de complicações sépticas, os animais com artrite não apresentam febre, permanecem alerta e mantêm um apetite normal apesar da crescente perda de condição corporal (Narayan e Cork, 1990).

1.5.2. Artrite: alterações patológicas e histopatológicas

As alterações macro e microscópicas observadas em artrites induzidas pelo CAEV, em condições naturais ou experimentais, foram descritas por diversos autores como um processo de poliartrite/polissinovite, com lesões típicas de processos degenerativos e inflamatórios, que afectam os tecidos conjuntivos periarticulares, bolsas sinoviais, tendões e bainhas tendinosas (Adams *et al.*, 1980b; Crawford *et al.*, 1980; Cheevers *et al.*, 1988; Narayan e Cork, 1990; Wilkerson *et al.*, 1995; von Bodungen *et al.*, 1998).

As articulações afectadas apresentam tumefacção periarticular, com acumulação de líquido sinovial e distensão da cápsula articular, bursa e bainhas tendinosas. Nos casos mais graves, ocorre mineralização dos tecidos moles, acumulação de fibrina e destruição macroscópica da superfície articular. Estas alterações macroscópicas são acompanhadas com uma razão entre os diâmetros carpo/metacarpo > 2.0 e evidência radiográfica de tumefacção e mineralização dos tecidos moles, com alterações degenerativas da superfície articular (Crawford *et al.*, 1980; Wilkerson *et al.*, 1995; von Bodungen *et al.*, 1998).

Nas fases iniciais da artrite, o fluido articular é menos viscoso que o normal, é tingido de sangue ou cor de palha e contém grande quantidade de células inflamatórias mononucleadas (superior a 500 células/mm³). Pode ainda conter fibrina, fragmentos da membrana sinovial e detritos mineralizados (Adams *et al.*, 1980b; Crawford *et al.*, 1980; Narayan e Cork, 1990).

No exame histopatológico é possível observar hiperplasia da membrana sinovial, hipertrofia marcada das vilosidades com angiogénese e uma infiltração maciça de células mononucleadas. Estas células podem organizar-se em tecido linfóide ectópico compreendendo centros germinativos de células B e mantos de células T activadas (Cheevers *et al.*, 1988; Wilkerson *et al.*, 1995; Lechner *et al.*, 1997b; von Bodungen *et al.*, 1998).

Lesões mais tardias consistem em necrose das estruturas de colagénio, incluindo a cápsula articular, tendões e bainhas tendinosas, ligamentos e bursas. Em casos mais graves ocorrem lesões de necrose extensa, com mineralização dos detritos necróticos e subsequente fibrose. Neste estado de degeneração, os tendões e ligamentos podem romper (Narayan e Cork, 1990; Wilkerson *et al.*, 1995).

1.5.3. Mamite

A infecção por SRLV causa uma mamite indurativa, com a glândula mamária simetricamente aumentada e firme à palpação. É uma importante manifestação clínica de SRLV, principalmente em caprinos, e é conhecida como doença do "úbere firme" ("hard udder") causada por CAEV (Smith e Cutlip, 1988) em analogia com a doença "saco firme" ("hard bag"), descrita em ovinos infectados com MVV (van der Molen *et al.*, 1985; van der Molen e Houwers, 1987; Houwers *et al.*, 1988).

Estas lesões consistem numa hiperplasia linfóide marcada, que em casos crónicos se tornam nódulos linfóides (Storset *et al.*, 1997; Ravazzolo *et al.*, 2006). Observa-se mamite intersticial, caracterizada pela infiltração de células inflamatórias, com acumulação de linfócitos, plasmócitos e macrófagos no interstício da glândula mamária (Narayan e Cork, 1990).

1.5.4. Encefalite

A encefalite afecta principalmente os cabritos jovens, geralmente entre 2 a 6 meses de idade. Os animais afectados apresentam uma alteração da marcha normal, seguida de ataxia, fraqueza e paresia posterior, que pode ser uni ou bilateral e em poucas semanas pode progredir para tetraparesia. Estes animais ficam em decúbito e geralmente acabam por morrer. Contudo, com bons cuidados de suporte, estes animais podem recuperar da fase aguda da doença, embora com algum grau de paresia residual e possibilidade de desenvolver artrite em adultos.

Geralmente os animais não apresentam hipertermia, mantêm-se alerta e têm um apetite normal (Norman e Smith, 1983; Narayan e Clements, 1989; Narayan e Cork, 1990).

Os cabritos podem parecer cegos ou mostrar sinais de “circling”, mantendo-se o reflexo de resposta à ameaça e percepção à dor, podendo ocorrer também hipertonia, hiperreflexia e desvios da cabeça (Norman e Smith, 1983; Narayan e Cork, 1990).

Histologicamente, as lesões são de meningoencefalomielite e desmielinização (Crawford *et al.*, 1980), podendo ser detectadas no cérebro e medula espinhal, com envolvimento das meninges e do plexo coroídeo. Foram descritos focos de organização perivascular, contendo linfócitos, macrófagos e plasmócitos, além da infiltração da substância branca e proliferação de células gliais (Norman e Smith, 1983; Narayan e Cork, 1990).

A desmielinização é uma característica marcante do quadro histopatológico, acompanhado de malácia e calcificação focal e, nos casos mais graves, pode também ocorrer necrose, que se estende à substância cinzenta da medula espinhal (Pétursson *et al.*, 1990).

O envolvimento neurológico em caprinos adultos não é tão comum e por vezes ocorre associado à forma respiratória. Os animais apresentam uma paralisia lenta progressiva, inicia-se por uma ligeira alteração da marcha que progride ao longo de vários meses até à paralisia. As lesões são semelhantes às encontradas em cabritos e ovinos com *visna*, com localização comum em áreas periventriculares do mesencéfalo, cerebelo, ponte e medula espinal (Norman e Smith, 1983; Pétursson *et al.*, 1990).

1.5.5. Pneumonia

A apresentação pulmonar é muito frequente e grave em ovinos, embora rara e de menor gravidade em caprinos. Em cabritos foi inicialmente descrita pneumonia intersticial, em associação com leucoencefalomielite e posteriormente descrita em cabras adultas, com lesões semelhantes aos ovinos com *maedi*. Os sintomas são tosse, dispneia após exercício físico, taquipneia, consolidação pulmonar e comprometimento do estado geral *maedi* (Grewal e Burton R. W., 1986; Ellis *et al.*, 1988b, a; Narayan e Cork, 1990; Pétursson *et al.*, 1990).

Na necrópsia observam-se aderências pleurais, pulmões pesados e firmes à palpação e áreas de coloração rosa-acinzentada, especialmente nos lobos caudal ou cranioventral. A apresentação histológica é de uma pneumonia intersticial e broncointersticial, observando-se hiperplasia linfóide com frequente organização em nódulos, espessamento dos septos alveolares e infiltração e proliferação de linfócitos, plasmócitos e macrófagos (Sims *et al.*, 1983; Ellis *et al.*, 1988b, a; Watt *et al.*, 1992; Pépin *et al.*, 1998).

1.6. Resposta imunitária

A infecção por SRLV é caracterizada pela indução de resposta imunológica celular e humoral, em intensidade variável e não protectora contra a replicação viral (Adams *et al.*, 1980a; Bertoni *et al.*, 1994).

1.6.1. Resposta imunitária de linfócitos B

A resposta humoral contra as proteínas virais codificadas pelos genes *gag* e *env* aparece após a infecção natural ou experimental e varia com o decorrer da doença. Quando ovinos ou caprinos são infectados experimentalmente, ocorre uma resposta serológica específica (Adams *et al.*, 1980a; Lacerenza *et al.*, 2006; Carrozza *et al.*, 2009). No entanto, a velocidade de seroconversão em animais infectados naturalmente, pode variar de algumas semanas a vários meses (McGuire *et al.*, 1988; Rimstad *et al.*, 1993; Castro *et al.*, 2002).

O papel dos anticorpos no controlo das infecções por SRLV continua controverso, apesar de amplamente estudado (Bertoni, 2007). Um dos aspectos mais discutidos é a presença de anticorpos neutralizantes, verificou-se que estes anticorpos, embora possam estar presentes, o seu título é geralmente baixo (McGuire *et al.*, 1988).

A eficiência destes anticorpos é posta em causa pela presença de ácido siálico na superfície do virião, dificultando a acção dos anticorpos (Huso *et al.*, 1988) e pelo aparecimento de variantes de SRLV, que escapam à neutralização (McGuire *et al.*, 1988; Hotzel e Cheevers, 2005).

As variantes antigénicas detectadas em caprinos infectados, sugerem que os anticorpos impõem uma forte pressão selectiva sobre o vírus. No entanto, viriões sensíveis à neutralização podem ser isolados do sangue ou de líquido sinovial de caprinos infectados, mesmo na presença desses anticorpos; lançando dúvidas sobre a papel dos anticorpos neutralizantes no combate à infecção (Ellis *et al.*, 1987). Os anticorpos podem ainda aumentar inicialmente a infecção de macrófagos, embora não contribuam para o aumento da replicação do vírus (Kennedy-Stoskopf e Narayan, 1986; Jolly *et al.*, 1989).

A resposta imunitária dos animais infectados é direccionada para as várias proteínas estruturais do vírus codificadas pelos genes *gag*: CA, NC e MA e *env*: TM e SU e pode variar ao longo do tempo (Adams *et al.*, 1985; McGuire *et al.*, 1992; Grego *et al.*, 2005; Mordasini *et al.*, 2006; Myers-Evert e Herrmann-Hoesing, 2006; Lacerenza *et al.*, 2008). A resposta ocorre preferencialmente para as glicoproteínas do invólucro viral, estas contêm epítomos lineares de células B com os domínios mais ou menos conservados entre diferentes estirpes de CAEV (Bertoni *et al.*, 1994; Bertoni *et al.*, 2000; Valas *et al.*, 2000). Existe uma ampla reacção cruzada

entre diferentes antigénios obtidos de SRLV (Johnson *et al.*, 1983a; Johnson *et al.*, 1983b; Gogolewski *et al.*, 1985) e entre estes e o HIV (Louie *et al.*, 2003; Tesoro-Cruz *et al.*, 2003). Também ocorre reacção cruzada entre os anticorpos dirigidos contra as proteínas codificadas pelo gene *gag* (Rosati *et al.*, 1999; Lacerenza *et al.*, 2008).

A força da resposta dos anticorpos anti-Env está associada à gravidade da artrite, o que sugere que os mecanismos mediados por anticorpos contribuam para a doença induzida pelo CAEV (Knowles *et al.*, 1990). Títulos de anticorpos anti-Env elevados logo após a infecção, permitem prever com fiabilidade o eventual desenvolvimento de artrite (Knowles *et al.*, 1990; Trujillo *et al.*, 2004a). Em caprinos com artrite progressiva, foram encontrados altos títulos de anticorpos contra as proteínas transmembranares e em especial para dois epítomos imunodominantes TM do CAEV, assim associados ao aparecimento da doença (McGuire *et al.*, 1992; Bertoni *et al.*, 1994; Davies *et al.*, 1997).

1.6.2. Resposta imunitária de linfócitos T

Na resposta imunitária celular, os linfócitos T desempenham um papel importante, geralmente benéfico, no controlo da infecção viral aguda e persistente (Welsh *et al.*, 2004). Esta resposta é caracterizada pela proliferação de linfócitos T CD4⁺ (Nenci *et al.*, 2007) e T CD8⁺, porém o seu papel na protecção dos caprinos e ovinos contra a infecção por SRLV é ainda pouco claro (Lichtensteiger *et al.*, 1993; Blacklaws *et al.*, 1994).

Os linfócitos T CD4⁺, na infecção por retrovírus, podem ter vários papéis: (1) actuar como células-alvo, (2) controlar a indução da resposta imunitária e (3) causar a activação imunitária, facilitando a replicação do vírus nos monócitos/macrófagos e células dendríticas (Hom *et al.*, 1991; Hasenkrug e Chesebro, 1997). No caso dos SRLV, estes linfócitos parecem estar relacionados com o aumento da replicação vírica nas fases iniciais. Ovinos com imunodepressão transitória de células T CD4⁺ apresentaram uma redução drástica do número de macrófagos infectados (Eriksson *et al.*, 1999a). Por outro lado, a experiência recente de imunização com um péptido Gag sintético, induz uma resposta imunitária forte de células T CD4⁺, que aumenta a replicação do vírus após a infecção experimental (Nenci *et al.*, 2007).

Os linfócitos T citotóxicos CD8⁺ estão envolvidos tanto na promoção como na redução da replicação durante a infecção por lentivírus. São considerados importantes no controlo da carga viral em ovinos e caprinos com infecção persistente, através da eliminação directa das células infectadas e pela secreção de citocinas e quimiocinas (Bird *et al.*, 1993; Lichtensteiger *et al.*, 1993; Blacklaws *et al.*, 1994; Blacklaws *et al.*, 1995). No entanto, a supressão destas células em

ovinos infectados experimentalmente, não teve impacto na carga viral, pelo menos nas fases iniciais da infecção (Eriksson *et al.*, 1999b).

A influência da infecção por CAEV na alteração do número, fenótipo e proporção de células T CD4⁺/CD8⁺ em animais com infecção crónica é controversa. Há concordância quanto ao aumento do número de linfócitos, no entanto, alguns autores não encontram qualquer alteração na proporção CD4⁺/CD8⁺ e fenótipo (Watt *et al.*, 1992; Grezel *et al.*, 1997), enquanto que noutros estudos há alteração da proporção CD4⁺/CD8⁺ por aumento das células T CD8⁺ e diminuição das T CD4⁺, com redução significativa dos monócitos e ainda alteração fenotípica com aumento dos linfócitos $\gamma\delta$ TcR (receptor de células T gama/delta) (Jolly *et al.*, 1997; Ponti *et al.*, 2008).

O estado clínico da infecção por CAEV pode estar relacionado com a qualidade e a polaridade da resposta das células T auxiliares, com activação diferencial de linfócitos T auxiliares do tipo 1 ou 2. A artrite crónica causada por CAEV em caprinos está associada à activação crónica de linfócitos B, resultante de uma resposta imunitária dominante do tipo 2 (Perry *et al.*, 1995). A resposta imunitária do tipo 2 ao antígeno Env, caracterizada por uma resposta dominante IL-4 e uma expressão reduzida IFN- γ , foi descrita em cabras com processo de desenvolvimento de artrite clínica. Inversamente, os animais infectados assintomáticos mostraram uma forte resposta IFN- γ após estimulação com antígeno Env, apontando para os efeitos benéficos de uma resposta imunitária tipo 1 no controlo da carga viral (Cheevers *et al.*, 1997).

A manipulação do espectro de citocinas produzidas pelas células apresentadoras de antígeno profissionais, como os macrófagos, pode ser um importante factor que influencia a qualidade e a quantidade da resposta imunitária de células T auxiliares. *In vitro*, o CAEV manipula directamente a expressão de citocinas em macrófagos infectados. A expressão constitutiva de IL-8 (interleucina 8) e da MCP-1 (“monocyte chemoattractant protein-1”) estão aumentadas em macrófagos infectados, enquanto o TGF- β 1 (factor de crescimento transformador beta 1) diminui. Além disso, os macrófagos infectados apresentam uma resposta alterada ao estímulo com agonistas de receptores “toll-like” (TLRs), como o lipopolissacarídeo (LPS), *Listeria monocytogenes* inactivada pelo calor ou *Staphylococcus aureus*. Os macrófagos infectados respondem a esta estimulação com uma expressão reduzida de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-12, enquanto que a expressão de GM-CSF é aumentada ou reduzida, dependendo do agente (Lechner *et al.*, 1997a).

1.7. Diagnóstico

A existência de infecções por SRLV numa exploração pode ser suspeitada perante a presença de sinais clínicos da doença, particularmente quando mais de um dos seguintes sinais ocorre na exploração: artrites, mamites, emagrecimento e pneumonia progressiva nos animais adultos, encefalite e paresia progressiva nos cabritos jovens (Narayan e Cork, 1990; de Andrés *et al.*, 2005).

Um diagnóstico presuntivo pode ser baseado na história, dados clínicos, epidemiológicos e anátomo-patológicos. Porém, estes dados não são suficientes por si só para sustentar um parecer definitivo, devendo considerar-se também outras entidades nosológicas no diagnóstico diferencial (Tabela 2) e ter uma confirmação laboratorial (Merck e Co, 2000; CFSPH, 2007).

Tabela 2. Alguns diagnósticos diferenciais a considerar no diagnóstico da infecção pelos SRLV (Merck e Co, 2000; CFSPH, 2007).

	Quadro clínico			
	Sinais Neurológicos	Artrite	Mamite	Pneumonia
Diagnósticos diferenciais	Toxoplasmose, Listeriose, Raiva, Scrapie	Artrite traumática	Outros agentes infecciosos	Pneumonia parasitária
	Traumatismos anomalias congénitas	Artrite séptica		Pneumonia bacteriana
	Ataxia enzoótica (deficiência em cobre)	Outras doenças		crónica
	Abcessos na medula espinal,	infecciosas		Abcesso pulmonar
	Nematodíase cerebroespinal,	Micoplasmose		Adultos: lifadenite
	Polioencefalomalácia,	Clamidiose		caseosa
	Doença do músculo branco			

1.7.1. Diagnóstico laboratorial

No diagnóstico laboratorial de SRLV são utilizadas várias técnicas baseadas na detecção de anticorpos, no isolamento viral, na detecção de antigénios virais ou ainda na identificação de porções correspondentes ao seu genoma (OIE, 2008).

A qualidade dos vários métodos pode ser avaliada pela sua sensibilidade (medida de falsos negativos) e especificidade (medida de falsos positivos) (OIE, 2008). Devido à ausência de um teste padrão (“gold-standard”), a estimativa destes parâmetros é particularmente difícil, razão pela qual a fiabilidade dos dados publicados deve ser interpretada com cautela (de Andrés *et al.*, 2005).

1.7.1.1. Diagnóstico serológico

A detecção de anticorpos circulantes é um valioso instrumento diagnóstico, sendo muitas vezes a forma mais prática e conveniente de diagnóstico. Devido às características de infecção

persistente por SRLV, a obtenção de um resultado positivo para a presença de anticorpos é suficiente para a identificação dos portadores do vírus (Knowles *et al.*, 1994; Knowles, 1997; de Andrés *et al.*, 2005; OIE, 2008).

Existem várias técnicas laboratoriais que podem ser utilizadas para este fim. As mais comuns são: Imunodifusão em gel de agar (AGID), ELISA (“Enzyme-linked-immunosorbent assay”), RIPA (“Radioimmunoprecipitation assay”), RIA (“Radioimmunoassay”) e “Western Blot” (WB). Estas metodologias de teste podem ser agrupadas em duas categorias: testes de rastreio (AGID e ELISA), recomendados pelo OIE (“Office Internacional des Épizooties”) para o comércio internacional de animais, e exames complementares (RIPA, RIA, WB), mais utilizados como testes de confirmação (de Andrés *et al.*, 2005; OIE, 2008).

1.7.1.1.1. AGID

O teste AGID para diagnóstico de SRLV foi desenvolvido pela primeira vez nos anos 70, e tem sido amplamente utilizado; é de execução relativamente simples, baixo custo e não exige equipamentos sofisticados (Grewal, 1986a, b; Knowles *et al.*, 1994; Abreu *et al.*, 1998; OIE, 2008).

Este método baseia-se na formação de linhas de precipitação, correspondentes aos complexos antígeno-anticorpo num gel de agar. Para a sua realização são utilizados viriões completos como antígeno, concentrados a partir de sobrenadantes de culturas celulares infectadas. São detectados os anticorpos para dois antígenos com importância na serologia de rotina, a glicoproteína gp135 e a proteína CA (p28 em CAEV ou p25 em MVV) (de Andrés *et al.*, 2005; OIE, 2008).

A sensibilidade do teste AGID para detecção de anticorpos anti-CAEV é dependente da estirpe do vírus utilizado na produção de antígeno. A sensibilidade e especificidade deste teste com antígenos obtidos de CAEV foram calculadas para 91% e 100%, respectivamente, em relação a RIPA, enquanto que utilizando como antígeno uma estirpe de MVV a sensibilidade diminui para 0,56% (Knowles *et al.*, 1994). Por outro lado, o uso do antígeno gp135 apresenta maior sensibilidade para o teste AGID que o antígeno p28 (Adams e Gorham, 1986).

Em geral, a sensibilidade destes testes é baixa quando comparada com a sensibilidade dos testes RIPA, ELISA, WB e PCR. Também a leitura dos resultados depende do antígeno utilizado e necessita de pessoal especializado para o efeito (de Andrés *et al.*, 2005; Modolo *et al.*, 2008; OIE, 2008).

1.7.1.1.2. ELISA

Este teste foi desenvolvido pela primeira vez em 1982 e, pelas suas características, é hoje amplamente utilizado no diagnóstico de SRLV. Pode ser usado para testar a presença de anticorpos contra SRLV em soro, amostras individuais de leite e também em “pools”, prevendo desta forma a prevalência da CAE em rebanhos de caprinos (Motha e Ralston, 1994; OIE, 2008).

Existem actualmente mais de 30 publicações que descrevem técnicas de ELISA para detectar a infecção por SRLV. Estas podem ser globalmente classificadas em ELISA directos ou indirectos (iELISA) que usam como antigénios viriões completos ou proteínas recombinantes (ou péptidos sintéticos) e ELISA de competição (cELISA) baseado na utilização de anticorpos monoclonais anti-virais (de Andrés *et al.*, 2005; OIE, 2008).

Os testes ELISA que utilizam como antigénio o virião completo têm sensibilidade entre 92% e 100% e especificidade de 93% a 100%. O antigénio é obtido do sobrenadante de culturas celulares infectadas e detecta anticorpos para os epítomos de gp135 e de p28 (Archambault *et al.*, 1988; Heckert *et al.*, 1992; Vander Schalie *et al.*, 1994; Simard *et al.*, 2001).

Existem vários testes iELISA baseados em antigénios recombinantes ou péptidos sintéticos. Estes são produzidos a partir de segmentos parciais ou da totalidade dos genes *gag* ou *env* ou ainda de fragmentos recombinantes. A sensibilidade destes testes varia consideravelmente entre <40% a 100% enquanto a especificidade tende a ser mais elevada (Heckert *et al.*, 1992; Keen *et al.*, 1995; Kwang *et al.*, 1995; Boshoff *et al.*, 1997; Pasick, 1998b; DeMartini *et al.*, 1999; Saman *et al.*, 1999; de Andrés *et al.*, 2005).

A técnica de ELISA com antigénio recombinante único é geralmente menos sensível que a mesma técnica utilizando vírus completo. No entanto, a inclusão de 2 antigénios, um do núcleo e outro do invólucro resulta em sensibilidade e especificidade equivalentes aos ensaios de ELISA com vírus completo (de Andrés *et al.*, 2005).

O cELISA baseia-se na competição de anticorpos contidos no soro a testar e anticorpos monoclonais (Mabs) específicos dos antigénios gp135 ou p28 ou gp90 (MVV). A sensibilidade e especificidade são elevadas para este tipo de teste, variando entre os 93% e os 100% e 96,4 e 100%, respectivamente, tendo como padrão relativo os testes WB ou RIPA (Fevereiro *et al.*, 1999; Ozyoruk *et al.*, 2001; Herrmann *et al.*, 2003a; Herrmann *et al.*, 2003b).

1.7.1.1.3. Exames complementares: RIPA, RIA e WB

Devido à sua complexidade e custos, os testes RIPA, RIA e WB são utilizados apenas como testes complementares para confirmação de resultados duvidosos, obtidos a partir de testes

de rastreio (Gogolewski *et al.*, 1985; Archambault *et al.*, 1988; Rimstad *et al.*, 1994; Rosati *et al.*, 1995; DeMartini *et al.*, 1999; Saman *et al.*, 1999).

A escolha destes métodos como métodos padrão de diagnóstico de SRLV é em certa medida uma norma arbitrária, como tal, é preciso ter cautela na interpretação dos resultados para evitar falsas conclusões no diagnóstico de SRLV (de Andrés *et al.*, 2005; OIE, 2008).

1.7.1.2. Identificação do agente

1.7.1.2.1. Isolamento do vírus

O isolamento e caracterização do MVV e CAEV normalmente não são utilizados em diagnóstico de rotina por se tratarem de metodologias caras e demoradas. A recolha de material pode ser feita a partir de um animal vivo ou amostras de tecidos obtidos após a necrópsia. No primeiro caso, o isolamento é feito geralmente a partir de leucócitos contidos no sangue, leite ou líquido sinovial. *Post mortem*, são colhidos tecidos suspeitos: pulmão, glândula mamária, membrana sinovial, etc., assepticamente e tão cedo quanto possível. O isolamento do vírus pode ser feito pela cultura conjunta de monócitos/macrófagos do animal suspeito e uma linha celular mantida *in vitro* (células da membrana sinovial de caprinos – GSM ou células do plexo coróide de ovinos – SPC). Nesta última, observam-se efeitos citopáticos na presença do vírus, tipicamente com formação de células gigantes multinucleadas (sincícios) (Adeyemo *et al.*, 1996; Ravazzolo *et al.*, 2006; OIE, 2008).

Este método é relativamente ineficiente uma vez que a carga viral é geralmente muito baixa (Haase, 1986; Ellis, 1990) e muitas estirpes de SRLV não replicam eficientemente em culturas celulares utilizadas por rotina nos protocolos de co-cultivo (Chebloune *et al.*, 1996b), ou quando replicam não são citopáticas e, portanto, difíceis de detectar sem aplicação de protocolos de imunocoloração ou amplificação de ácidos nucleicos (Narayan *et al.*, 1980).

1.7.1.2.2. Métodos de reconhecimento de ácido nucleico

Vários laboratórios utilizam métodos de reconhecimento de ácido nucleico para detectar, quantificar e identificar ADN proviral, usando a PCR seguida de “Southern blotting” e Hibridação *in situ*, ou clonagem e/ou sequenciação dos produtos de PCR (Haase *et al.*, 1990; Reddy *et al.*, 1993; Storset *et al.*, 1996; Carrozza *et al.*, 2003; Shah *et al.*, 2004a).

PCR

A PCR é uma técnica baseada na amplificação de determinados genes ou sequências genéticas utilizando “primers”, que tem sido utilizada para detectar genes de uma grande variedade de microrganismos em amostras (Rodriguez, 1997). Desde o início da década de 90,

vários estudos descrevem protocolos de PCR com utilização no diagnóstico de SRLV (Haase *et al.*, 1990; Zanon *et al.*, 1990; Gelman *et al.*, 1992; Zanon *et al.*, 1992; Carrozza *et al.*, 2003; Shah *et al.*, 2004a; Kuzmak *et al.*, 2007).

As sequências-alvo dos *primers* podem estar presentes em qualquer porção do genoma do vírus, incluindo sequências mais ou menos conservadas da LTR, e genes *gag*, *pol*, e *env*. A escolha da sequência do “primer” a partir de regiões relativamente conservadas, como *pol* e LTR, é geralmente vantajosa para o desenvolvimento de um ensaio de PCR (Reddy *et al.*, 1993; Storset *et al.*, 1996; Wagter *et al.*, 1998; Travassos *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2000).

Várias técnicas de PCR têm sido utilizadas para detectar SRLV em amostras de sangue, sêmen, leite líquido sinovial ou outros tecidos de caprinos e ovinos infectados. São elas a PCR convencional (Reddy *et al.*, 1993; Clavijo e Thorsen, 1996), a RT-PCR (Leroux *et al.*, 1997b), a *semi-nested* PCR (Celer Jr, 2000; Eltahir *et al.*, 2006), a *double-nested* PCR (Barlough *et al.*, 1994) e mais recentemente ensaios quantitativos como a PCR em tempo real (Zhang *et al.*, 2000; Gudmundsson *et al.*, 2003; Brinkhof *et al.*, 2008).

Até agora, foram feitas poucas estimativas sobre a sensibilidade e especificidade da técnica para o caso específico dos SRLV, mas acreditou-se inicialmente que seria uma técnica altamente sensível e específica e que, como tal, traria grandes melhorias no diagnóstico (de Andrés *et al.*, 2005; Bertoni, 2007). No entanto, existem ainda dificuldades no desenvolvimento de protocolos de PCR adequados, uma vez que existe grande variabilidade genética das estirpes e baixa carga viral *in vivo* (Zanon *et al.*, 1992; de Andrés *et al.*, 2005).

Em geral, os testes de PCR tendem a ser menos sensíveis do que muitos testes ELISA, embora a PCR possa detectar animais infectados antes da seroconversão, tornando-se útil para testar animais seronegativos ao teste de ELISA. Assim, uma combinação de ambas as técnicas pode otimizar a detecção de infecção por SRLV (de Andrés *et al.*, 2005).

Actualmente, é aguardado com interesse o desenvolvimento na área do diagnóstico molecular; o aparecimento dos protocolos PCR em tempo real traz novo potencial para a construção de testes de rastreio (de utilização em larga escala) (de Andrés *et al.*, 2005; Gunson *et al.*, 2006). Por outro lado, a sequenciação sistemática de um grande número de estirpes de SRLV permite melhorias no desenho dos “primers” com reactividade mais ampla, embora o desenvolvimento de PCR com “primers” “pan-SRLV” possa constituir uma tarefa utópica (Shah *et al.*, 2004a).

1.7.1.3. Dificuldades de diagnóstico

Um dos principais problemas no diagnóstico serológico de SRLV é a lenta cinética de seroconversão (Rimstad *et al.*, 1993; OIE, 2008). Para além disso, pode ocorrer serologia intermitente em animais anteriormente detectados como seropositivos. Após a seroconversão, os níveis de anticorpos originam um pico e depois diminuem para um nível menor mas relativamente estável (Adams *et al.*, 1980a; Cheevers *et al.*, 1988). No entanto, em alguns animais estudados durante semanas, meses ou anos, ocorre uma resposta intermitente de anticorpos detectados por AGID, ELISA ou WB (Ellis *et al.*, 1986; Rowe *et al.*, 1992; Rimstad *et al.*, 1993).

O conhecimento acumulado ao longo dos últimos anos sobre a diversidade genética de SRLV mostrou uma surpreendente variabilidade do seu genoma (Zanoni, 1998; Shah *et al.*, 2004a). Estas diferenças genéticas entre as estirpes de SRLV têm consequências óbvias sobre as características antigénicas das proteínas virais e podem influenciar os testes de diagnóstico (Knowles *et al.*, 1994; OIE, 2008). A diversidade genética, em conjunto com a distribuição geográfica heterogénea de diferentes estirpes e a transmissão cruzada entre ovinos e caprinos, podem resultar na utilização de estirpes SRLV inadequadas na produção de antígeno aumentando a possibilidade de ocorrência de resultados falsos negativos (Grego *et al.*, 2002; Grego *et al.*, 2005). Este problema pode ser minimizado pelo estudo e sequenciação de isolados de SRLV da área geográfica de interesse (Bertoni, 2007).

1.8. Tratamento

Não existe tratamento específico para a CAE, mas podem ser aplicadas medidas de tratamento de suporte para melhorar a condição dos animais afectados. As medidas incluem aparo de cascos com regularidade, camas adequadas e alimentação de qualidade e facilmente digerível, terapia antibiótica no tratamento de infecções bacterianas secundárias, bem como a administração de anti-inflamatórios em cabras com artrite (Merck e Co, 2000; CFSPH, 2007).

1.9. Prevenção e controlo

1.9.1. Programas de controlo

Várias medidas foram aplicadas em programas de controlo com o objectivo de limitar as perdas económicas, diminuir a incidência de sinais clínicos e evitar a disseminação do agente. Na maioria dos casos, estes programas são de adesão voluntária, com ou sem a participação das autoridades oficiais (Reina *et al.*, 2008b).

Uma das primeiras medidas tomadas com êxito na luta contra os SRLV foi o abate de animais na erradicação do MVV na Islândia, logo após a introdução do vírus através de ovinos vindos da Alemanha. Mais tarde, foram iniciados programas de controlo em muitos países europeus, bem como noutros países a nível mundial (Rowe *et al.*, 1992; Peretz *et al.*, 1994; Sihvonen *et al.*, 2000; Peterhans *et al.*, 2004; Reina *et al.*, 2008b). Actualmente, devido à disponibilidade de vários meios de diagnóstico e um melhor conhecimento da doença, é possível a aplicação de programas de controlo menos drásticos e com resultados satisfatórios. Estes programas são geralmente adaptados a cada situação, dependendo do tipo de exploração, condições de manejo e prevalência da doença; o sucesso da sua aplicação vai ser influenciado pela adesão dos criadores e autoridades oficiais (Peterhans *et al.*, 2004).

A base comum dos programas de controlo é o rastreio serológico periódico dos rebanhos e a restrição do contacto com efectivos positivos (Sihvonen *et al.*, 2000). O passo inicial para estabelecer um plano de controlo e/ou erradicação é a determinação da prevalência da doença, estabelecendo depois um plano adaptado à situação, que passa por: (1) diminuição da prevalência da doença com redução da seroprevalência alta para níveis mais baixos; (2) erradicação da doença com redução de serologia baixa para negativa (3) e finalmente por consolidação do *status* negativo e erradicação do vírus (Peterhans *et al.*, 2004).

Para diminuir a prevalência da doença nas explorações, uma ou mais medidas de controlo foram recomendadas para o controlo de SRLV:

- Rastreio serológico periódico dos rebanhos com remoção dos seropositivos (com substituição por animais SRLV negativos ou segregação dos grupos seronegativos e seropositivos) (Rowe *et al.*, 1992; Sihvonen *et al.*, 2000; Berriatua *et al.*, 2003).
- Separação dos recém-nascidos das mães imediatamente após o nascimento e alimentação com leite/coloostro seguro: tratado termicamente (a 56°), de animais seronegativos, de origem bovina, ou leite pasteurizado. Esta estratégia tem sido bastante importante no sucesso de programas de erradicação (Rowe *et al.*, 1992; Berriatua *et al.*, 2003).
- Restrição do contacto de rebanhos com efectivos positivos (também durante as operações de transumância) e controlo do comércio de animais vivos (Sihvonen *et al.*, 2000; Peterhans *et al.*, 2004).

A erradicação voluntária de CAE iniciada em 1984, na Suíça, é um exemplo de programa de sucesso. Na altura a seroprevalência era de 60 a 80% e foi diminuída para cerca de 1% em 14 anos, com eliminação da doença clínica e reconhecimento de rebanhos “livres” de CAEV. O

programa era baseado em testes periódicos, refugio dos seropositivos e separação dos cabritos à nascença com alimentação com colostro bovino ou substitutos do leite (Peterhans *et al.*, 2004).

1.9.2. Vacinação

Até agora, não foi possível desenvolver uma vacina para lentivírus segura e eficiente, oferecendo amplo espectro de protecção, tal como se pode verificar pela experiência do HIV (Girard *et al.*, 2006). Há, no entanto, uma excepção no caso do vírus da Imunodeficiência Felina, no qual têm sido obtidos resultados mais eficazes (Yamamoto *et al.*, 1993)

No caso dos SRLV, foram investigadas de forma independente várias estratégias de vacinação para a CAE e Maedi-visna. Dificilmente estas vacinas experimentais poderão ser aplicadas na prática, mas os resultados obtidos permitem avaliar o papel da resposta imunitária no controlo ou aumento da replicação e propagação dos SRLV *in vivo* (Bertoni, 2007; Reina *et al.*, 2008b).

A vacinação clássica com viriões vivos ou inactivados mostra-se ineficaz, com resposta inconsistente de anticorpos neutralizantes, o que poderia ser ultrapassado com uma vacina emulsionada em adjuvante, contendo *Mycobacterium tuberculosis* (Narayan *et al.*, 1984). No entanto, a indução de uma resposta forte em anticorpos pode, em alguns casos, levar ao agravamento das lesões após a infecção experimental ou causar artrite aguda (Russo *et al.*, 1993; Vitu *et al.*, 1993).

Outra estratégia foi desenvolvida no sentido de estimular os linfócitos T, uma vez que estes desempenham um papel importante na defesa imunitária contra os lentivírus e ajudam na indução de uma resposta forte dos linfócitos B. No entanto, a indução de uma forte resposta em células T CD4⁺, com vacinação com um péptido Gag contendo epítomos para células T, mostrou um aumento transitório na replicação do vírus *in vivo* (Fluri *et al.*, 2006; Nenci *et al.*, 2007).

As vacinações experimentais com clones virais, vírus geneticamente modificados ou plasmídeos recombinantes são as alternativas mais recentes de imunização (Reina *et al.*, 2008b).

Vários estudos foram direccionados para a utilização de vacinas vivas atenuadas. A utilização de um vírus mutante CAEV-CO com supressão do gene *tat* reduz significativamente a carga viral do vírus testado, embora não haja uma resposta de anticorpos totalmente neutralizante, induzindo ainda uma leve artrite nos animais vacinados (Harmache *et al.*, 1998; Kemp *et al.*, 2000). Uma estratégia semelhante foi utilizada para o MVV com um clone pouco virulento, resultando numa menor carga viral nos animais vacinados (Pétursson *et al.*, 2005).

Várias vacinas recombinantes que têm sido testadas, utilizam vírus geneticamente modificados (VLP – *virus like particles*), geralmente vírus *vaccinia Ankara*, transportando os

genes *gag* e/ou *env* mas ainda não conferem protecção imunitária eficiente (Cheevers *et al.*, 2000; Beyer *et al.*, 2001; Trujillo *et al.*, 2004b; Reina *et al.*, 2008a; Niesalla *et al.*, 2009).

A produção experimental de vacinas de ADN contra os SRLV foi incentivada pelos resultados promissores obtidos para outros agentes infecciosos. Vários plasmídeos foram utilizados em vacinações por via parenteral ou através da mucosa, expressando diferentes antígenos virais, com ou sem a adição de genes de citocinas como potenciais adjuvantes (Beyer *et al.*, 2001; Cheevers *et al.*, 2001; Cheevers *et al.*, 2003; González *et al.*, 2005; Torsteinsdóttir *et al.*, 2007; Reina *et al.*, 2008a; Niesalla *et al.*, 2009). Algumas experiências mostram uma resposta imunitária específica para o vírus, mas sem protecção eficiente e, por vezes, com consequências nocivas, indicando que os SRLV são também um modelo válido para o estudo de doenças induzidas por vacinas (Bertoni, 2007; Reina *et al.*, 2008b).

As diferentes estratégias utilizadas confirmam a grande dificuldade de desenvolver uma vacina contra agentes patogénicos classe II, resistentes às estratégias de vacinação clássica e capazes de persistir nos hospedeiros infectados. A tendência actual é a adopção de uma tecnologia de reorientação da resposta imunitária (“Imune refocusing technology”) que pressupõe a “camuflagem” ou a eliminação dos epítomos imunodominantes (“deceptive imprinting”), o que pode permitir ao sistema imunitário reconhecer epítomos subdominantes e produzir anticorpos neutralizantes que conferem protecção (Tobin *et al.*, 2008).

2. ESTUDO DA INFECÇÃO PELOS SRLV EM CAPRINOS DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO

2.1. INTRODUÇÃO

A infecção por SRLV pode causar uma doença inflamatória multisistémica persistente, de progressão lenta, envolvendo mais frequentemente as articulações, os pulmões, a glândula mamária e o sistema nervoso central. O agente infecta as células da linha monocítica/macrofágica e a sua replicação *in vivo* está associada à diferenciação dos monócitos em macrófagos. A infecção é caracterizada por um longo período de incubação, de meses a vários anos e, muitos animais nunca desenvolvem sintomatologia (Narayan *et al.*, 1983; Zink *et al.*, 1990).

A transmissão ocorre principalmente através da ingestão de colostro ou leite infectados, adquirindo por isso a infecção muitas vezes uma característica “familiar”. Porém, outras vias de transmissão, como a transplacentária e a aerógena, devem também ser consideradas (Rowe e East, 1997).

A infecção por SRLV em caprinos tem uma ampla distribuição mundial, principalmente em países onde a caprinicultura é uma actividade económica importante, geralmente mais associada à produção leiteira (Crawford e Adams, 1981; Adams *et al.*, 1984; East *et al.*, 1987; Cutlip *et al.*, 1992; Contreras *et al.*, 1998; Daltabuit Test *et al.*, 1999).

Devido à inexistência de vacina ou tratamento eficaz para a CAE, o controlo da doença passa pela profilaxia sanitária com o objectivo de limitar as perdas económicas, diminuir a existência de sinais clínicos e evitar a disseminação do agente. Após o sucesso conseguido pela Islândia, vários países europeus iniciaram programas sanitários para controlo e erradicação da doença, com estratégias e resultados muito variáveis (Reina *et al.*, 2008b).

O passo inicial destes programas de controlo passa pela determinação da prevalência da doença, geralmente por rastreio serológico, estabelecendo depois um plano adaptado à situação sanitária, económica e sociocultural (Peterhans *et al.*, 2004).

Em Portugal, particularmente na região de Trás-os-Montes, não foi ainda realizado qualquer estudo sobre a prevalência da infecção em caprinos. Contudo, em ovinos a infecção por estes agentes é muito frequente no nosso país, com prevalência de 34,4% em ovinos e 81,6% em rebanhos (Fevereiro, 2009) e a transmissão entre as duas espécies é possível, especialmente em efectivos mistos (Shah *et al.*, 2004b; Gjerset *et al.*, 2007).

A caprinicultura é uma actividade económica importante na região de Trás-os-Montes e Alto Douro, com um efectivo caprino autóctone representado principalmente por duas raças, a Bravia e a Serrana.

A raça Bravia habita os lugares mais inóspitos das regiões do Minho e Trás-os-Montes. A população encontra-se actualmente em perigo de extinção com cerca de 9700 fêmeas reprodutoras inscritas no registo zootécnico da raça, distribuídas por cerca de 100 explorações (ANCABRA – comunicação pessoal 2009). Pela sua sobriedade, rusticidade e adaptação ao meio é um animal ímpar, de grande importância económica e social para a população destas regiões montanhosas que englobam o Parque Natural do Alvão e Parque Nacional da Peneda Gerês (Sobral, 1987).

Foi reconhecida como raça pelo Estado Português somente em 1987, com implementação do seu Registo Zootécnico (1998), actualmente ao cuidado da Associação Nacional de Criadores de Cabra Bravia (ANCABRA). É a única raça caprina portuguesa exclusivamente de aptidão de carne, utilizada principalmente para a produção de cabritos, geralmente em produção extensiva. A fertilidade é cerca de 85% e os partos concentram-se em duas épocas: uma nos primeiros meses de Outono e outra em Fevereiro e Março (Sobral, 1987).

A raça Serrana é originária da Serra da Estrela e povoa uma maior área do país. Como resultado do meio em que vivem, distinguem-se 4 ecotipos: Jarmelista, Da Serra, Ribatejano e Transmontano. Este último é o que predomina na região de Trás-os-Montes, onde existem actualmente 156 explorações com cerca de 13000 fêmeas registadas no livro genealógico da raça, que está a cargo da Associação Nacional de Caprinicultores de Cabras de Raça Serrana (ANCRAS). Trata-se de uma raça completamente adaptada ao meio onde se encontra apresentando grande rusticidade. As fêmeas são poliéstricas permanentes. A prolificidade da raça situa-se entre 170-180%. Os partos ocorrem entre Outubro e Novembro e entre Janeiro e Fevereiro. A aptidão principal é a produção de leite, complementada com a produção de cabritos que são vendidos aos 30 ou 40 dias (Sobral, 1987).

2.1.1. Objectivos

Com a realização deste trabalho pretendeu-se contribuir para a caracterização epidemiológica, no Norte de Portugal, desta infecção em caprinos das raças Bravia e Serrana. Tendo por base esta finalidade definiram-se os seguintes objectivos:

– Cálculo da prevalência da infecção pelo lentivírus dos pequenos ruminantes em caprinos das raças Bravias e Serrana.

– Caracterização sumária dos efectivos de caprinos da raça Bravia e raça Serrana, particularmente no que respeita à presença de sintomatologia clínica associável à artrite e encefalite dos caprinos, à presença de factores de risco associados à doença e à existência de condições e interesse no seu controlo ou erradicação.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Amostras e animais

Com o objectivo de determinar a presença e prevalência da CAE em caprinos das raças Bravia e Serrana foram pesquisados anticorpos para os SRLV em amostras de soro de 351 animais.

Entre os meses de Fevereiro e Maio de 2009 foram visitados 10 rebanhos da raça Bravia e 17 da Serrana e recolhidas amostras de sangue em 13 caprinos de cada um dos 27 rebanhos seleccionados.

A selecção dos rebanhos foi feita pelas Associações de criadores de cada uma das raças com base na adesão voluntária dos produtores. Dentro de cada rebanho a selecção dos animais foi feita de modo aleatório entre as fêmeas com mais de um ano.

Aquando da colheita de sangue foi preenchida uma folha de campo com data, identificação da exploração, identificação e idade de cada animal.

O sangue de cada animal foi recolhido em tubos secos, por punção da veia jugular. As amostras foram refrigeradas e transportadas para o laboratório de microbiologia do Departamento de Ciências Veterinárias da UTAD onde foram centrifugadas a 1500g durante 10 minutos. O soro obtido foi colocado em tubos “Eppendorf” e armazenado a -20°C, até ao seu envio para o Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV) onde foi realizado o teste serológico.

2.2.2. Provas Laboratoriais

2.2.2.1. Teste ELISA de competição

A prova serológica utilizada foi cELISA de competição (cELISA), de acordo com o descrito por Fevereiro, 1999, realizada no departamento de virologia do Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV).

2.2.3. Inquérito epidemiológico

Foi realizado o inquérito epidemiológico do Anexo I em 44 explorações de caprinos, 10 da raça Bravia e 34 da raça Serrana. Em todas as explorações de raça Bravia foi feita a recolha das amostras de sangue em simultâneo com o preenchimento do inquérito, enquanto que nas explorações de raça Serrana a recolha de amostras foi feita em apenas 17 das 34 explorações onde foi realizado inquérito epidemiológico.

O inquérito epidemiológico é constituído por 3 partes, o primeiro grupo com a identificação da exploração, o segundo grupo com 16 questões a colocar directamente ao proprietário, essencialmente sobre o efectivo e práticas de manejo e o ultimo grupo com os resultados observados pelo inquiridor sobre o estado geral dos animais e características das instalações.

2.2.4. Análise de dados

Os cálculos foram executados com recurso aos programas Excel (Microsoft Office® 2003) e SPSS 15® (SPSS Inc., Chicago III, USA) para Windows.

A prevalência individual foi determinada pela divisão do número de animais seropositivos pelo número total de amostras analisadas. A prevalência por rebanho foi determinada pela divisão do número de rebanhos com pelo menos um animal positivo pelo número total de rebanhos (Thrusfield, 1986).

A prevalência verdadeira (PV) a nível individual foi expressa em função da sensibilidade (S) e especificidade (E) da técnica de cELISA utilizada e da prevalência aparente (PA), de acordo com a correcção de Rogan-Gladen $PV = (PA - 1 + E) / (S - 1 + E)$ (Rogan e Gladen, 1978).

Na análise dos inquéritos foi utilizada numa primeira fase a estatística descritiva para análise dos dados obtidos.

Numa segunda fase, algumas variáveis do inquérito com uma relação biológica plausível com o resultado seropositivo, foram estudadas através de associação estatística. Para a análise estatística dos dados foram utilizados o teste do Qui-quadrado de Pearson (χ^2) ou o teste exacto de Fisher, quando as condições de utilização do teste do Qui-quadrado não foram verificadas. O nível de probabilidade utilizado na decisão dos testes estatísticos foi (p) $<0,05$ com nível estatisticamente significativo.

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Caracterização da amostra

No total foram analisados soros de 351 cabras com mais de um ano em 27 rebanhos de caprinos. Foram obtidos soros de 130 caprinos de raça Bravia de 10 rebanhos, esta amostragem equivale a cerca de 10% do total de rebanhos activos (98) da raça Bravia e a cerca de 1,3% do total de fêmeas da raça (9700). As outras 221 amostras de soro foram obtidas em 17 rebanhos da raça Serrana, o que corresponde também a cerca de 10% (17/156) do total de rebanhos e a cerca de 1,7% (221/13000) do total de fêmeas do ecotipo transmontano.

A idade dos animais analisados está registada na Tabela 3 e pode observar-se no Gráfico 1 a distribuição relativa dos animais por idades. Para a raça Serrana os animais analisados têm maioritariamente entre 3 e 7 anos, enquanto que na raça Bravia existe uma percentagem superior de animais com 4 e 8 anos. No total dos animais a idade mais frequente é entre 3 e 8 anos.

Tabela 3. Distribuição dos animais analisados por idade.

	Nº de animais		
Idade	Bravia	Serrana	Total
2	18	5	23
3	13	29	42
4	19	42	61
5	17	39	56
6	10	30	40
7	21	22	43
8	17	19	36
9	8	13	21
10	5	15	20
11	2	7	9
Total	130	221	351

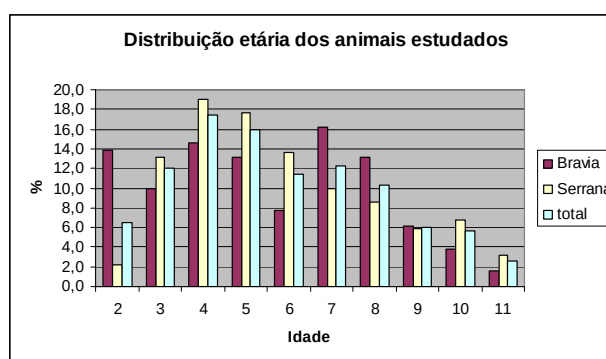


Gráfico 1. Distribuição etária relativa dos animais estudados, a percentagem foi obtida pela divisão do num de animais de determinada idade pelo total de animais analisados.

2.3.2. Técnica de cELISA

As 351 amostras foram analisadas individualmente e 119 (33,9%) revelaram reacção positiva ao teste cELISA e as restantes 232 (66,1%) foram consideradas como negativas. Os resultados deste estudo detectaram assim, anticorpos para SRLV em 119/351 (33,9%) caprinos. A percentagem de animais positivos em cada rebanho e varia entre os 7,69% (1/13) e os 100% (13/13) (Tabela 1 e 2).

Neste estudo os rebanhos foram considerados como positivos para a infecção pelos SRLV quando pelo menos uma animal foi positivo no teste cELISA. A percentagem de rebanhos positivos foi 59,26% (16/27) no total, dois destes rebanhos apresentaram apenas um animal

positivo. Notou-se uma clara diferença quando se consideram as duas raças em separado, 82,35 % (14/17) dos rebanhos da raça Serrana são positivos em contraste com apenas 20,0% (2/10) da raça Bravia (Tabelas 1 a 4).

Tabela 4. Resultados serológicos apresentados por rebanho.

Rebanho	Nº positivos	%
B1	0	0
B2	10	76,92
B3	0	0
B4	0	0
B5	0	0
B6	0	0
B7	0	0
B8	0	0
B9	1	7,69
B10	0	0
S1	7	53,85
S2	0	0
S3	4	30,76
S4	8	61,54
S5	7	53,85
S6	9	69,23
S7	13	100
S8	11	84,62
S9	13	100
S19	6	46,15
S11	3	23,08
S12	2	15,38
S13	11	84,62
S14	0	0
S15	12	92,31
S16	1	7,69
S17	0	0

Tabela 5. Resultados serologia com teste ELISA

Resultado	Nº rebanhos	% rebanhos	Nº animais	% animais
Positivo	16	59,26	119	33,62
Negativo	11	40,74	232	66,32

Tabela 6. Resultados serologia com teste cELISA na raça Bravia

Resultado	Nº rebanhos	% rebanhos	Nº animais	% animais
Positivo	2	20,0	11	8,46
Negativo	8	80,0	119	91,54

Tabela 7. Resultados serologia com teste cELISA na raça Serrana

Resultado	Nº rebanhos	% rebanhos	Nº animais	% animais
Positivo	14	82,35	108	48,42
Negativo	3	17,65	113	51,58

2.3.3. Cálculo da Prevalência

2.3.3.1. Cálculo da prevalência através da técnica de cELISA

A técnica de cELISA foi positiva em 119 (33,62%) das 351 amostras de soro analisadas. A prevalência estimada para as amostras individuais, correspondentes aos 351 animais aos quais se colheu sangue foi de 33,62%. Esta prevalência individual difere entre as raças de caprinos estudadas (Gráfico 2). Na raça Bravia apenas 11 amostras de 2 rebanhos foram positivas ao teste cELISA o que dá uma prevalência de 8,46%, notando-se que a prevalência no rebanho B2 é bastante superior ao rebanho B9 (Gráfico 4). Na raça Serrana a prevalência individual é 48,42%, (Gráfico 2), nos rebanhos a prevalência varia entre 0 a 100% (Gráfico 3).

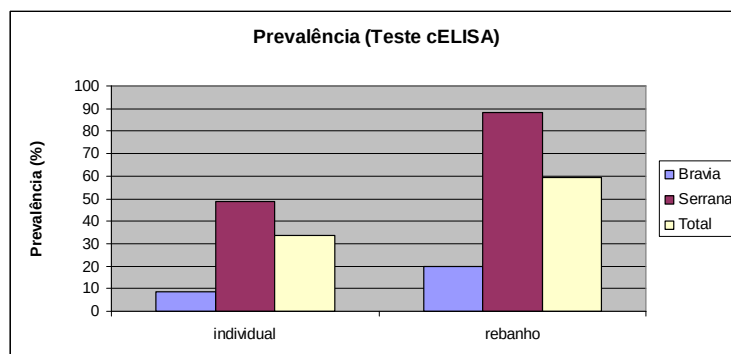


Gráfico 2. Prevalência da infecção pelos SRLV obtida com recurso ao teste serológico cELISA.

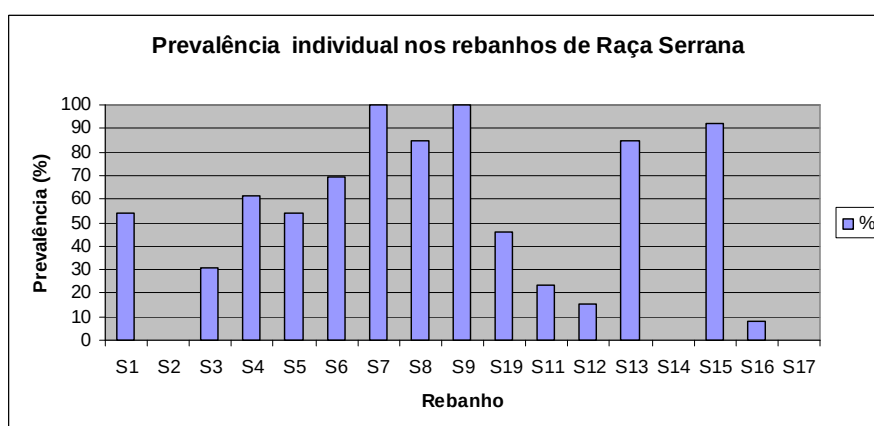


Gráfico 3. Prevalência da infecção pelos SRLV por rebanho na raça Serrana (cELISA).

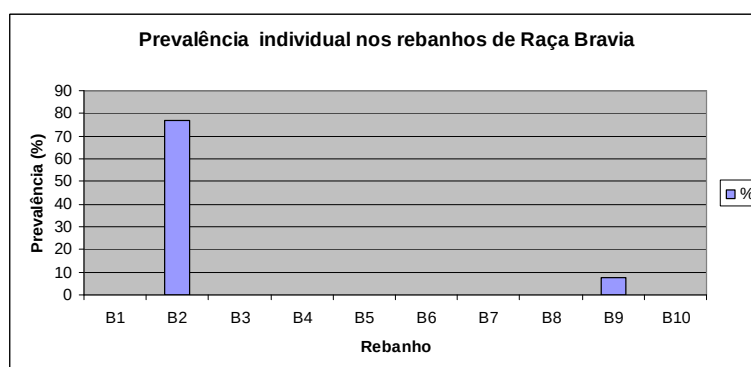


Gráfico 4. Prevalência da infecção pelos SRLV por rebanho na raça Bravia (cELISA).

2.3.3.2. Cálculo da prevalência verdadeira

A prevalência estimada foi ajustada para um valor de sensibilidade de 93% e um valor de especificidade de 100%, de acordo com os valores referenciados para a técnica de cELISA utilizada por Fevereiro, 2009 (quando comparada com o teste de WB). Assim os valores de prevalência verdadeira são de 36,15% no total e de 9,10% nos caprinos da raça Bravia e 52,07% nos caprinos da raça Serrana.

2.3.4. Caracterização da População

O inquérito epidemiológico foi aplicado a 10 explorações de caprinos de raça Bravia e 34 explorações de caprinos da raça Serrana. A tabela 13, do Anexo II, contém uma compilação dos resultados obtidos nos inquéritos.

As explorações visitadas (Anexo III) estão dispersas pelos distritos da região de Trás-os-Montes e Alto Douro. Os rebanhos de caprinos da raça Bravia (Figura 1 - sinais verdes) localizam-se principalmente na região da Serra do Alvão, abrangendo os concelhos de Boticas, Mondim de Basto, Ribeira de Pena, Vila Pouca de Aguiar e (Distrito de Vila Real) e Cabeceiras de Basto (Distrito de Braga).

Os rebanhos de caprinos da raça Serrana (Figura 1 - sinais azuis) estão mais distribuídos pela região de Trás-os-Montes. Foram visitadas explorações nos concelhos de Alijó, Murça, Vila real e Valpaços, pertencentes ao distrito de Vila Real e nos concelhos de Alfândega da Fé, Bragança, Macedo de Cavaleiros, Mirandela, Mogadouro, Vimioso e Vila Flor, pertencentes ao distrito de Bragança e ainda uma exploração no concelho de Armamar do distrito de Viseu.

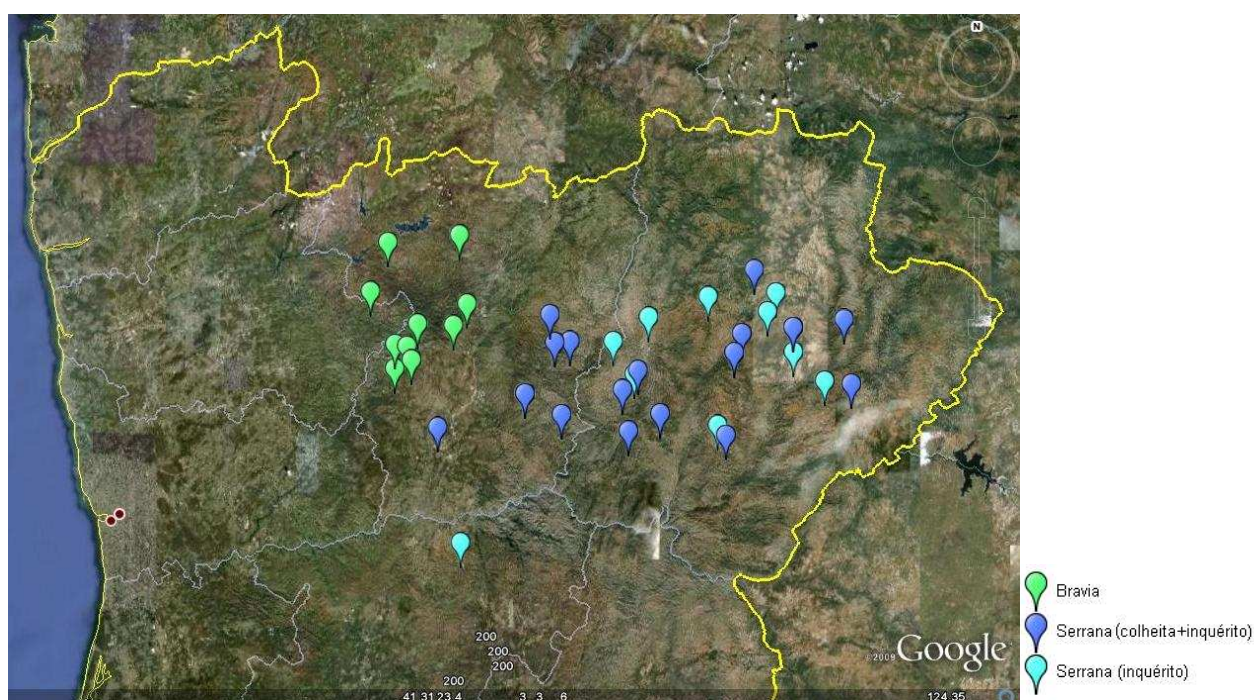


Figura 1 – Mapa de distribuição das explorações visitadas (Google® Earth 2009).

Geralmente é o proprietário que cuida da exploração (mais de 86.7% dos casos). E em 62,7% dos casos a exploração é a única ocupação.

As explorações visitadas são 65,9% do tipo extensivo, 31,8% do tipo semi-extensivo e apenas 1 (2,3%) é do tipo intensivo. À excepção do efectivo do tipo intensivo, os animais são mantidos em pastoreio durante o dia e em estabulação pelo menos durante a noite.

A maioria dos rebanhos tem no total entre 50 a 150 animais. A maioria dos efectivos da raça Bravia tem entre 100-150 animais, enquanto que na raça Serrana se nota uma tendência para rebanhos mais pequenos, com 50 a 100 animais, como podemos observar na Tabela 6.

Tabela 6. Tamanho dos e constituição dos efectivos

Tamanho do efectivo	Bravia	%	Serrana a)	%	Serrana b)	%	Serrana	%	Total	%
<50	0	0	0	0	2	14,3	2	5,9	2	4,5
[50-100[	0	0	9	52,9	12	70,6	21	61,8	21	47,7
[100-150[	8	80	4	23,5	1	5,8	5	14,7	13	29,5
[150-200[	1	10	4	23,5	1	5,8	5	14,7	6	13,6
≥200	1	10	0	0	1	5,8	1	2,9	2	4,5
Total	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100

O número de cabritos na exploração é bastante variável ao longo do tempo, dependendo da época de partos e venda de cabritos. A taxa de fertilidade (relação entre o número médio de cabritos nascidos por ano em relação ao número de fêmeas) varia entre 0,63 num efectivo de caprinos de Raça Bravia e 1,78 num efectivo da raça Serrana. Na maior parte dos rebanhos da raça Bravia esta taxa é inferior a 1 enquanto que na Serrana é geralmente maior. Estes dados podem ser consultados em pormenor na Tabela 15 do Anexo IV.

Nas explorações visitadas 6/44 tinham efectivos mistos de ovinos e caprinos. Na tabela seguinte são apresentados os efectivos que tinham ovinos presentes no mesmo rebanho ou nas mesmas instalações da exploração (Tabela 7).

Tabela 7. N° de ovinos.

Exploração	N° de ovinos
B2	7
S3	50
S6	100
S8	50
S9	26
S17	170

Em todos os inquéritos realizados nenhum obteve resposta positiva quanto ao conhecimento da doença.

Quanto à observação de sinais clínicos de mamite, sinais respiratórios e artrite estes são observados, respectivamente em 61,4%, 56,8% e 59,1% das explorações. Em 42,9% das explorações há animais refugados com pelo menos um destes sinais (Tabela 8).

Tabela 8. Sinais clínicos indicativos de CAE.

Sinais	Bravia	%	Serrana a)	%	Serrana b)	%	Serrana	%	Total	%
Mamite	6	60	10	58,8	11	64,7	21	61,8	27	61,4
Total	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100
Sinais respiratórios	10	100	8	47,1	7	41,2	15	44,1	25	56,8
Total	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100
Artrite	8	80	10	58,8	8	47,1	18	52,9	26	59,1
Total	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100
Refugo	5	50	4	26,7	9	52,9	13	40,6	18	42,9
Total	10	100	15	100	17	100	32	100	42	100

Quanto à mortalidade nos cabritos (Tabela 9), 62,8% dos inquiridos responderam que tinham um número elevado de mortes. No entanto a percentagem de efectivos com uma taxa de mortalidade acima dos 5% ou acima dos 10% é respectivamente 79,9 e 66,7%.

Nos 43 inquéritos validados para esta questão, os cabritos de 9 explorações apresentaram sinais neurológicos aquando da morte. Destas 9 explorações 5 correspondem a rebanhos de raça Bravia (50% dos rebanhos da raça Bravia) e 4 correspondem a rebanhos da raça Serrana (12,1% do total de rebanhos de Serrana).

Tabela 9. Mortalidade nos cabritos. (Txm = nºcabritos mortos/nº cabritos por ano*100)

Morte cabritos	Bravia	%	Serrana a)	%	Serrana b)	%	Serrana	%	Total	%
Sim	10	100	5	31,3	12	70,6	17	51,5	27	62,8
Não	0	0	11	68,8	5	29,4	16	48,5	16	37,2
Total	10	100	16	100	17	100	33		43	100
Txm>5%	10	100	7	46,7	13	92,9	20	69,0	30	79,9
Txm>10%	10	100	6	40,0	10	71,4	16	55,2	26	66,7
Total	10		15		14		29		39	100
Sinais nervosos	5	50	2	15,4	3	27,7	5	20,8	10	33,3
Total	10		13		11		24		30	

Em 84,1% (37/44) das explorações é feita a vacinação contra a Agaláxia contagiosa. Nestas explorações a vacinação é feita uma vez por ano em 43,2% (16/37) das explorações, é 2 vezes por ano em 51,4% (19/37). Apenas em duas explorações de raça Serrana a vacinação é feita 3 vezes por ano.

A preocupação com esta vacinação é maior na raça Serrana; em 94% das explorações visitadas os animais são vacinados, enquanto que na Bravia esta percentagem desce para os 50% com uma menor frequência de vacinação.

Nas explorações de raça Bravia apenas 2 explorações introduziram animais novos na exploração, sendo que numa das explorações foram introduzidos animais para aumentar o efectivo e noutra exploração foram introduzidos 2 machos com vista a evitar a consanguinidade.

Tabela 10. Explorações com introdução de animais novos.

Exploração	Animais introduzidos
B1	147
B2	2 machos
S16	1macho
S17	30
I3	90
I4	1 macho
I13	3 machos
I14	62
I15	2 machos

Nos rebanhos de raça serrana 6 efectivos introduziram animais, 3 explorações introduziram apenas machos e as restantes 3 introduziram um número maior de animais para aumentar ou substituir parte do efectivo (Tabela 10).

O número médio de cabritas criadas por ano para substituição das fêmeas reprodutoras no rebanho é em média de 18 cabritas por rebanho na raça bravia e de 16 na raça serrana. A taxa de substituição aproximada é maior que 20% em 1/10 explorações de raça Bravia e em 15/33 (45,5%) nas explorações de raça Serrana.

A utilização de bodes de outros rebanhos não é prática comum, nos rebanhos de raça Bravia nenhum inquirido respondeu afirmativamente à questão colocada, enquanto que em 3/23 rebanhos da raça Serrana costuma haver troca de bodes com outros rebanhos na época reprodutiva.

Na época de partos 5/10 (50%) dos inquiridos na raça Bravia e 32/34 (94,1%) na raça Serrana responderam que costumam assistir e ajudar nos partos caso seja necessário.

Nos caprinos de raça Bravia não é feita ordenha dos animais em lactação enquanto que na raça Serrana a ordenha é feita em todos os rebanhos, excepto um. Dos 22 rebanhos ordenhados, 21 têm ordenha manual e 1 estava em fase de transição para ordenha mecânica.

Na maior parte das vezes os cabritos mamam directamente das mães. Nos caprinos da raça Bravia isso acontece na totalidade dos rebanhos estudados enquanto que na raça Serrana existem 2/23 rebanhos em que isso não ocorre.

Os cabritos podem ainda ser alimentados com leite de outras cabras, geralmente quando por algum motivo não podem ser alimentados pelas mães. Isso acontece em todas as explorações de raça Bravia visitadas enquanto que na raça Serrana os cabritos só são alimentados com leite de outras cabras em 68,8% das explorações. Em nenhuma das explorações estudadas o leite ou colostro sofre tratamento térmico antes de ser dado aos cabritos.

Quanto à existência de banco de colostro na exploração apenas houve uma resposta positiva, embora não tenha indicado a quantidade de colostro guardado. Uma outra exploração já tem banco de colostro para ovinos e está a preparar um banco de colostro também para caprinos.

As doenças que mais preocupam os caprinicultores encontram-se discriminadas na Tabela 11. Destaque para as doenças dos cabritos (diarreias e infecções oculares) na raça Bravia e Agaláxia contagiosa e Ectima contagioso na raça Serrana.

Tabela 11. As doenças que mais preocupam os caprinicultores.

	Bravia	Nº respostas	Serrana	Nº respostas
Doenças	Agaláxia contagiosa	2	Agaláxia contagiosa	30
	Brucelose	1	Brucelose	2
	Clostridiose	1	Diarreias nos cabritos	2
	Diarreias nos cabritos	3	Ectima	13
	Ectima	1	Mamites agudas	1
	Infecções oculares nos cabritos	3	Paratuberculose	2
	Peeira	1	Peeira	2
	Pneumonia	1	Pneumonia	1
			Sinais neurológicos nos cabritos	1
			Tuberculose	1
			Enterotoxemia	1

Os dados recolhidos por observação aquando da visita às explorações encontram-se igualmente na Tabela 13 do Anexo II.

O estado geral dos animais e das instalações foi avaliado numa escala de 5 graus. As classificações atribuídas ao estado dos animais encontram-se na sua maioria entre o “suficiente” e o “bom”, o mesmo acontece para o estado das instalações.

Quanto à observação de características das instalações, apenas existe maternidade em 14 % das explorações, 1 exploração da raça Bravia e 6 da Serrana. O número de explorações com enfermaria ou local de quarentena é ainda menor, ronda os 7%, com 1 exploração da raça Bravia e 3 da raça Serrana. A percentagem de explorações sem água canalizada ou electricidade é maior que as explorações que têm esses recursos.

2.3.5. Análise Estatística

2.3.5.1. Comparação da idade dos animais com resultado do teste cELISA

A distribuição dos animais positivos por idades pode ser observada na Tabela 12 e a sua distribuição relativa pode ser comparada no gráfico da Gráfico 5. Para quase todas as idades a percentagem de animais positivos está entre os 20 e 40%, com excepção para os 9 e 11 anos que está acima desse valor e destaque para os animais de dois anos em que a percentagem está abaixo dos 10%.

A análise estatística da variáveis idade igual ou inferior a 2 anos e resultado do teste cELISA revelou uma associação significativa ($p < 0,05$; Teste exacto de Fisher) entre as variáveis, os animais com idade superior a dois anos apresentam um grau de seropositividade maior.

Tabela 12. Distribuição dos resultados cELISA por idade.

Idade	Nº animais positivos	Nº animais negativos	Total
2	2	21	23
3	14	28	42
4	20	41	61
5	22	34	56
6	16	24	40
7	11	32	43
8	10	26	36
9	10	11	21
10	7	13	20
11	6	3	9
Total	118	233	351

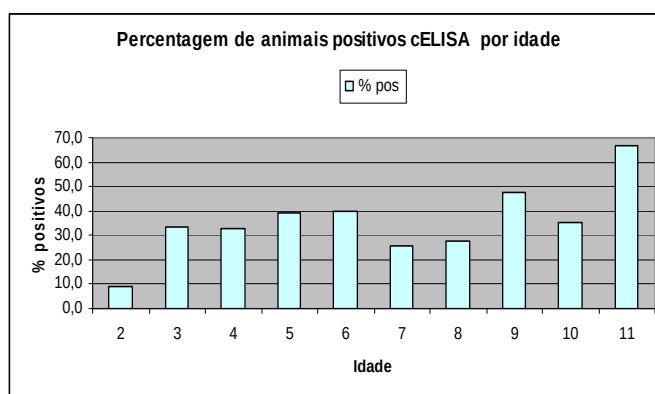


Gráfico 5. Percentagem de animais positivos por idade.

2.3.5.2. Comparação de alguns resultados do inquérito epidemiológico com resultado do teste cELISA.

Na análise de associação estatística foram analisadas variáveis do inquérito epidemiológico com uma relação plausível com o resultado seropositivo, Os resultados dessa análise encontram-se na Tabela 16 do Anexo V. As variáveis raça (Bravia ou Serrana) e a ordenha (realização de ordenha ou não) têm uma associação estatisticamente significativa com o resultado positivo do teste cELISA, e portanto com a presença de anticorpos contra SRLV. Os rebanhos da raça Serrana, que também coincidem com os rebanhos que são ordenhados, têm maior probabilidade de terem animais positivos no teste de diagnóstico cELISA.

As restantes variáveis analisadas: tipo de exploração, tamanho da exploração, presença de ovinos, presença de mamites, dificuldades respiratórias, artrites, existência de refugo, morte de cabritos >5%, morte de cabritos >10%, sintomas nervosos nos cabritos, vacinação contra a Agaláxia contagiosa, introdução ou não de animais na exploração e a taxa e substituição anual de fêmeas (estimada pelo numero de cabritas criadas), não tiveram qualquer associação estatisticamente significativa com o resultado positivo do teste cELISA.

2.4. DISCUSSÃO

O presente estudo é o primeiro publicado sobre CAE na região de Trás-os-Montes e Alto Douro. A prevalência da infecção por SRLV em caprinos foi estimada em 36,15%.

A seroprevalência encontrada é semelhante à estimada em ovinos nacionais (34,4%), embora mais elevada que a encontrada noutro estudo na região de Montemor-o-Novo, (22,8%), ambos os estudos realizados pelo LNIV (Fevereiro, 2009). Em Espanha numa sondagem realizada a 4003 animais, foi estimada uma prevalência de 35,2%, embora recorrendo ao teste de AGID (Berriatua *et al.*, 2003).

Em vários países, a prevalência da infecção pelos SRLV tem sido calculada em múltiplos estudos. Porém, a metodologia utilizada é bastante variável, também no que diz respeito ao teste de diagnóstico utilizado. Desta forma, devido à variação da fiabilidade das diferentes metodologias seguidas, a comparabilidade dos resultados pode não estar minimamente assegurada. Mesmo assim, verificamos que a prevalência individual por nós estimada é mais elevada que a encontrada nos seguintes estudos: 8,89% (134/1100 animais) na Jordânia (Al-Qudah *et al.*, 2006), 1 a 14,1% no Brasil (Pinheiro *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2005; Lilenbaum *et al.*, 2007), 0,4% (4/1078 animais) no México (Torres-Acosta *et al.*, 2003), menor que 10% na Grã-Bretanha, Fiji, Quênia, México, Nova Zelândia e Peru (Adams *et al.*, 1984), 0%, (900 animais) em Maiduguri na Nigéria (Baba *et al.*, 2000), 0% na Somália, Sudão e África do Sul (Adams *et al.*, 1984), 26,3% (total 15980 animais) em Itália (Gufler *et al.*, 2007) e 1,6% em ovinos na Finlândia (Sihvonen *et al.*, 1999). Em outras regiões foram estimadas prevalências superiores, como por exemplo: mais de 65% em França, Noruega, Canadá, Suíça e USA (Adams *et al.*, 1984), 50,3% na Califórnia, USA (East *et al.*, 1987), 42% na Noruega (Nord *et al.*, 1998b) e 56 a 60% na Austrália (Greenwood *et al.*, 1995). Foi utilizado o teste ELISA nestes dois últimos estudos e o AGID nos dois primeiros. Nos estudos realizados na Jordânia, Nigéria, Itália, França, Noruega e Califórnia foi também a utilizada a técnica ELISA, embora a metodologia fosse diferente daquela que o LNIV desenvolveu. Nos restantes trabalhos a técnica seleccionada foi a AGID.

A percentagem de efectivos positivos encontrada foi de cerca de 60%, variando entre 20% na raça Bravia e 82,35 % na raça Serrana, sendo que este último valor é muito próximo daquele que é apontado para os ovinos nacionais (81,6%) (Fevereiro, 2009).

A prevalência de efectivos infectados, em outros estudos, varia entre os seguintes valores: 3,6% no México (Torres-Acosta *et al.*, 2003), 9,2 a 57,1% no Brasil (Pinheiro *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2005; Lilenbaum *et al.*, 2007), 23,2% na Jordânia (Al-Qudah *et al.*, 2006), 38,0% em Itália

(Gufler *et al.*, 2007), 81% em 545 rebanhos de ovinos na Finlândia (Sihvonen *et al.*, 1999) e 86% na Noruega (Nord *et al.*, 1998b).

No presente estudo existem dois rebanhos positivos, um de cada raça, com apenas um animal com resultado positivo no teste cELISA. Na maior parte dos estudos acima citados, o rebanho é considerado positivo quando pelo menos um dos animais teve um resultado positivo no teste serológico. No entanto, no estudo apresentado por Nord e colaboradores, em 1998, o estatuto positivo de um rebanho é definido com dois ou mais animais positivos, o que no caso apresentado faria considerar os dois rebanhos como negativos, influenciando as percentagens finais.

A seroprevalência individual nos diferentes rebanhos varia de 0 a 100% (2 rebanhos). Porém, apenas três efectivos considerados positivos (B9, S12 e S15) têm prevalências abaixo da prevalência esperada de 20%. No estudo realizado por Nord e colaboradores, em 1997, na Noruega, nas 56 explorações estudadas a seroprevalência também varia entre 0 e 100%, sendo que 44 são negativas. Esta realidade acontece também em explorações de ovinos, como é exemplo um estudo no Quebec, Canadá, em que o nível de seroprevalência individual nos rebanhos varia entre 3 e 70% (Arsenault *et al.*, 2003).

Na análise por idades verificou-se que a seroprevalência nos animais até dois anos é significativamente menor que nos animais mais velhos. Até aos 2 anos a seroprevalência é menor que 10%, entre os 3 e 10 anos é 20-50% e nos animais com 11 anos é superior a 60%. Estes dados estão de acordo com outros estudos anteriores que associam uma maior seroprevalência nos animais mais velhos, justificada pelo maior tempo de exposição ao agente, factor muito importante para a seroconversão (Snowder *et al.*, 1990; Cutlip *et al.*, 1992; Greenwood *et al.*, 1995; Nord *et al.*, 1998b; Pinheiro *et al.*, 2001; Gufler *et al.*, 2007).

Da análise estatística obteve-se uma relação significativa entre a raça e a presença de anticorpos para SRLV, testada com a técnica cELISA. Existe uma diferença clara entre a prevalência na raça Bravia e na raça Serrana, que se pode verificar tanto na prevalência individual para cada raça como na percentagem de rebanhos infectados; já que ambos os valores são mais baixos para a raça Bravia. Por outro lado verificou-se também uma associação estatística entre os animais que são ordenhados e o resultado no teste cELISA positivo. Esta associação está relacionada com a raça, pois não é feita ordenha dos rebanhos estudados de raça Bravia (aptidão de carne) enquanto que ela é realizada em todos os rebanhos da raça Serrana (aptidão preferencialmente de leite), com excepção de um (S17).

Tanto uma associação estatística como outra devem ser analisadas com cautela porque, apesar de estatisticamente significativas podem não ter uma relação directa significativa e ser confundidas por outros factores (East *et al.*, 1987). Isto é, a relação não é com a genética da raça ou com a ordenha em si, mas pode estar associada a outros factores relacionados, como sejam a aptidão produtiva e as práticas de manejo que são diferentes nas duas raças. Podem ser apontadas as seguintes diferenças entre os sistemas de exploração das duas raças:

- Os rebanhos da raça Bravia são mais fechados, havendo menos trocas comerciais. Quando elas ocorrem são realizadas com animais desta raça, raramente se incorporam animais cruzados nas explorações, uma vez que a introdução de animais deste tipo é desincentivada pela existência de um programa de apoio à recuperação e melhoramento genético da raça. Para além disso, esta raça está muito bem adaptada ao seu habitat natural, que é demasiado exigente para a maior parte das outras raças. Desde modo pode contribuir para a baixa prevalência encontrada nos efectivos de raça Bravia, já que minimiza a transmissão a partir de animais vindos do exterior.

- Na raça Serrana as trocas comerciais parecem ser mais frequentes. É uma raça autóctone predominantemente explorada pela sua aptidão leiteira e encontra-se disseminada por uma maior extensão do nosso território, com um maior efectivo total que a raça bravia. Muitos efectivos possuem animais fruto de cruzamento entre raças, devido também a constantes trocas comerciais. Nesta raça parece ocorrer uma maior diversidade genética que se reflecte também nos diferentes ecotipos encontrados. Os contactos com raças exóticas produtoras de leite, algumas conhecidas pela elevada prevalência de infecção pelo CAEV, podem ter também contribuído para a elevada prevalência agora encontrada.

- Também a produção de queijo de mistura de leite de cabra e ovelha, apreciado por alguns produtores e consumidores destes produtos regionais, pode ter incentivado a manutenção de rebanhos mistos de ovinos e caprinos. Uma vez que a transmissão de SRLV entre ovinos e caprinos pode ocorrer, este será também um factor a considerar para a justificação da diferente prevalência encontrada nas duas raças.

O inquérito epidemiológico, aplicado a 10 explorações de caprinos de raça Bravia e 34 explorações de caprinos da raça Serrana, teve como objectivo caracterizar de forma sumária estes efectivos, particularmente no que respeita à presença de sintomatologia clínica associável à artrite e encefalite dos caprinos, à importância de factores de risco já identificados por outros e associados à doença e à existência de condições e interesse no seu controlo ou erradicação.

O inquérito foi feito aos produtores de modo que a interpretação dos resultados obtidos deve tomar em conta que a exactidão das respostas dadas pelos inquiridos é muito variável.

A distribuição das explorações visitadas pela Região de Trás-os-Montes e Alto Douro, coincide com a distribuição geográfica descrita na caracterização de cada raça feita por Sobral em 1987. A raça Bravia ocupa a zona do Parque Natural do Alvão e zonas limítrofes, enquanto que os rebanhos de Serrana, ecotipo Transmontano, estão mais distribuídos pela Região de Trás-os-Montes, maioritariamente pelo distrito de Bragança.

As explorações são geralmente de pequena-média dimensão (50-150 animais) e apenas uma das raças, Bravia ou Serrana, com uma média de 100 fêmeas reprodutoras por rebanho na raça Bravia e 83 na raça Serrana (dados fornecidos, respectivamente, pela ANCABRA e ANCRAS). Na maior parte das vezes é o proprietário que cuida dos animais, dando às explorações um carácter de “exploração familiar”. Deste modo, a rentabilidade das explorações pode limitar a aplicação dos rendimentos obtidos em melhorias das condições de produção e controle de doenças.

Nas explorações visitadas os animais são mantidos em estabulação pelo menos durante a noite, com excepção de uma exploração em que os animais estão sempre estabulados. A permanência dos animais em locais fechados e pouco ventilados favorece a via de transmissão aerógena, contribuindo para a disseminação da infecção no efectivo (Reina *et al.*, 2008b).

Nos efectivos das duas raças o número de cabritos na exploração é bastante variável ao longo do tempo, dependendo da época de partos e venda de cabritos. A taxa de fertilidade, relação entre o número médio de cabritos nascidos por ano e número de fêmeas, é inferior a 1 (100%) na raça Bravia e é superior na Serrana. Estes valores aproximam-se dos indicados para a fertilidade de cada raça, 85% na Bravia e 160-170% na raça Serrana (Sobral, 1987).

Das 44 explorações estudadas, 6 possuíam efectivos mistos de ovinos e caprinos, uma destas era de raça Bravia e as restantes de raça Serrana. Apesar de neste estudo não haver uma associação estatística significativa ($p > 0,05$) entre a presença de ovinos na exploração e o resultado positivo do teste cELISA, este factor é apontado como factor de risco na infecção por SRLV, uma vez que se provou que ocorre transmissão, em condições naturais, entre as duas espécies (Chebloune *et al.*, 1996a; Rolland *et al.*, 2002; Shah *et al.*, 2004b; Pisoni *et al.*, 2005; Denner, 2007).

A CAE não é reconhecida pelos produtores como uma doença. No que diz respeito à presença de sinais clínicos associáveis a esta doença, os produtores foram questionados sobre a presença de mamites, dificuldades respiratórias, artrite e sinais neurológicos nos cabritos e

também sobre o número de adultos que faleceram com algum dos sinais atrás referidos e sobre a mortalidade nos cabritos. Quanto à observação de sinais clínicos de mamite, sinais respiratórios e artrite, estes são observados em mais de 50% das explorações. Em 42,9% das explorações há animais refugados com pelo menos um destes sinais. O potencial envolvimento de SRLV nestas situações só pode ser confirmado em estudos mais detalhados.

Além disso, a taxa de substituição aproximada é maior que 20% numa exploração de raça Bravia e em 15 (45,5%) explorações de raça Serrana. O número médio de cabritas criadas por ano para substituição das fêmeas reprodutoras no rebanho é maior na raça Serrana do que na raça Bravia, podendo traduzir uma idade de refugo mais baixa para a raça Serrana, enquanto que as cabras de raça Bravia são mantidas no rebanho até mais tarde.

Quando questionados sobre a mortalidade nos cabritos, 62,8% dos inquiridos responderam que tinham um número elevado de mortes. No entanto a percentagem de efectivos com uma taxa de mortalidade acima dos 5% ou acima dos 10% é respectivamente 79,9 e 66,7%, mostrando algum grau de discordância entre o que é considerado um número elevado de mortes pelo inquirido e o ideal para uma exploração ser produtiva. De notar que o número de animais mortos e o número total de cabritos por ano não puderam ser confirmados pela inexistência de registos fidedignos nas explorações.

Apenas em 9 explorações foram observados sinais neurológicos aquando da morte de alguns cabritos, 5 correspondem a rebanhos de raça Bravia (50% dos rebanhos da raça Bravia) e 4 correspondem a rebanhos da raça Serrana (12,1% do total de rebanhos de Serrana).

Nenhum dos sinais clínicos pesquisados neste estudo tem uma associação estatisticamente significativa com o resultado positivo no teste serológico cELISA, embora todos possam estar presentes numa infecção por SRLV, tal como foi apontado na revisão bibliográfica.

A vacina contra a agaláxia contagiosa é aplicada em 94% das explorações de caprinos de raça Serrana e em 50% das de raça Bravia, sendo que em mais de metade dos rebanhos a vacinação é realizada mais de uma vez por ano. A vacinação sistemática contra esta doença nos efectivos de raça serrana indicia a importância que os produtores atribuem às mamites como geradoras de prejuízos económicos para os seus efectivos.

Em relação a outras práticas de manejo presentes nas explorações estudadas, pudemos verificar que a introdução de animais e a utilização de bodes de outros rebanhos não é prática comum, pelo menos neste último ano, o que pode reflectir já alguma sensibilização por parte dos proprietários para a importância negativa destas práticas no estatuto sanitário do seu efectivo.

Por outro lado, uma grande parte dos produtores afirmou assistir aos partos e auxiliar os animais se necessário.

Com excepção de dois efectivos da raça Serrana, onde não é apresentada qualquer alternativa alimentar, os cabritos mamam directamente nas suas mães. Em todos os efectivos inquiridos, os jovens podem ser alimentados com leite de outras cabras, geralmente quando por algum motivo não podem ser alimentados pelas suas mães. Esta situação pode contribuir para a disseminação do agente nos efectivos.

Em nenhuma das explorações estudadas o leite ou colostro sofre tratamento térmico antes de ser dado aos cabritos e até à data não existe banco de colostro nas explorações estudadas, excepto em uma, que não indicou a quantidade de colostro guardado. Estas são duas medidas preconizadas na maior parte dos programas de controlo adoptados em diferentes países (Rowe *et al.*, 1992; Berriatua *et al.*, 2003).

As doenças que mais preocupam os caprinicultores são doenças infecciosas, com destaque para as doenças dos cabritos (diarreias e infecções oculares) na raça Bravia e Agaláxia contagiosa e Ectima contagioso na raça Serrana. No entanto pode haver uma discordância entre as doenças apontadas pelos produtores e as que existem na exploração. Durante as visitas foram observados sinais clínicos compatíveis com patologias que não são referidas no inquérito, como é o exemplo de uma exploração em que vários animais apresentavam lesões compatíveis com linfadenite caseosa; outro exemplo é o elevado grau de parasitismo pulmonar e intestinal noutra exploração, confirmado laboratorialmente por exames coprológicos.

Relativamente aos dados observados pelos inquiridores sobre o estado geral dos animais e das instalações, as classificações atribuídas aos dois parâmetros encontram-se na sua maioria entre o “suficiente” e o “bom”. Estas classificações são arbitrárias e traduzem a opinião dos técnicos das associações de produtores, tendo por base a comparação entre as explorações da mesma raça. A informação que pretendíamos recolher é de natureza subjectiva e indicativa da influência que os técnicos das respectivas associações podem realizar junto dos produtores para a melhoria das condições das explorações.

A existência de maternidade e enfermaria ou local de quarentena é pouco frequente. Embora já exista uma percentagem considerável de explorações com água canalizada ou electricidade, as explorações que têm não têm esses recursos ainda predominam. Estas condições são importantes para a realização de medidas sanitárias efectivas para esta e outras doenças infecciosas.

A CAE é hoje uma doença infecciosa cujo combate é prioritário na maioria dos países europeus onde a caprinicultura tem alguma expressão, como é o caso da Islândia, Holanda, Finlândia, Bélgica, Dinamarca, França, Noruega, Suécia, Suíça e Canadá. As razões para tal prendem-se com os prejuízos causados pela infecção, fortemente penalizadores da rentabilidade económica das explorações, especialmente nas de carácter intensivo. A inexistência de tratamento e vacina eficazes leva a que apenas possam ser tomadas medidas de profilaxia sanitária para o controlo e erradicação da infecção (Rowe *et al.*, 1992; Peretz *et al.*, 1994; Sihvonen *et al.*, 2000; Peterhans *et al.*, 2004; Reina *et al.*, 2008b).

Assim, na presente situação regional, o passo inicial para estabelecer um plano de controlo e/ou erradicação é a determinação da prevalência da infecção. De seguida deve ser estabelecido um plano adaptado à situação epidemiológica local, que passa por: (1) diminuição da prevalência da doença com redução da seroprevalência alta para níveis mais baixos; (2) erradicação da doença com redução de serologia baixa para negativa (3) e finalmente por consolidação do *status* negativo e erradicação do vírus (Peterhans *et al.*, 2004)

Uma vez que há uma diferença significativa entre os efectivos das duas raças estudadas, o programa de controlo deve ser ajustado a cada caso específico. Nos rebanhos com níveis mais elevados de seroprevalência deve optar-se inicialmente pela redução da seroprevalência. Nos efectivos com prevalências mais baixas, pode iniciar-se um plano de erradicação e naqueles onde não seja detectada qualquer resposta serológica positiva deve ser consolidado o seu estatuto negativo e devem ser tomadas medidas sanitárias defensivas.

Para diminuição da seroprevalência são recomendadas as seguintes medidas: (1) A remoção dos animais seropositivos, (com substituição por animais SRLV negativos ou segregação dos grupos seronegativos e seropositivos) (Rowe *et al.*, 1992; Sihvonen *et al.*, 2000; Berriatua *et al.*, 2003). (2) Separação dos recém-nascidos das mães imediatamente após o nascimento e alimentação com leite/colostró tratado termicamente (a 56°C), de animais seronegativos, de origem bovina, ou leite pasteurizado (Rowe *et al.*, 1992; Nord *et al.*, 1998a; Berriatua *et al.*, 2003). (3) Restrição do contacto de rebanhos com efectivos positivos e controlo do comércio de animais vivos (Sihvonen *et al.*, 2000; Peterhans *et al.*, 2004).

Estas medidas podem ter algumas restrições de aplicabilidade nas explorações estudadas, pelo que devem ser tidas em conta alternativas. A eliminação dos animais seropositivos, para além de ser uma medida muito dispendiosa, pode levar a perdas genéticas importantes para as duas raças, especialmente para a raça Bravia que tem uma população reduzida. Em alternativa deve haver segregação em grupos de animais positivos e negativos o que implica alterações na

exploração, que podem ser impraticáveis. É também essencial a criação de alguns efectivos indemnizados que possam fornecer animais garantidamente isentos da infecção aos restantes produtores.

Um exemplo de sucesso no controlo da doença é o programa piloto que está a ser implementado no Quebeque (Simard, 2002; Fautrière *et al.*, 2007). Este programa baseia-se nos seguintes pressupostos: (1) teste periódico aos animais com mais de 6 meses, idealmente por ELISA; (2) eliminação dos animais positivos e todos os animais com menos de 6 meses que receberam colostro ou leite daqueles; (3) Tomar medidas de precaução de modo a evitar a reintrodução do vírus na exploração; (4) os rebanhos seronegativos são certificados em três estatutos diferentes (bronze, prata e ouro) consoante o rastreio feito aos animais.

Vários programas de controlo implementados têm tido sucesso mesmo em regiões com elevada prevalência da infecção. A erradicação voluntária de CAE iniciada na Suíça é um bom exemplo em que a seroprevalência estimada variável entre 60 e 80% foi diminuída para cerca de 1% em 14 anos (Peterhans *et al.*, 2004). Assim, nos cenários de elevada prevalência, os progressos são lentos, podendo demorar vários anos até se obterem resultados satisfatórios. Nestas condições é fundamental, para além de garantias de financiamento do programa, combater a natural desmotivação dos intervenientes. De notar que o controlo e erradicação podem levar mais ou menos tempo consoante as medidas aplicadas e o financiamento do programa.

O sucesso destes programas depende largamente da adesão dos produtores e das suas associações, bem como o envolvimento das autoridades oficiais. Na maioria dos casos, os programas de combate à CAE são de adesão voluntária, habitualmente com a participação das autoridades oficiais. Nestes programas é destacada a importância da motivação dos produtores e o envolvimento das suas organizações. Regra geral, as autoridades oficiais são mais reticentes na aplicação destes programas de controlo, sendo que as principais razões são o seu custo e a falta de legislação adequada (Reina *et al.*, 2008b).

Assim, um programa de controlo nesta região deve incluir as associações de produtores, ANCRAS, ANCABRA e OPPs, que têm um papel bastante importante na educação e motivação dos produtores, bem como na execução das acções de campo. Estas associações devem trabalhar em coordenação com as autoridades oficiais e com um laboratório de referência, neste caso o LNIV.

É importante referir que, dada a presença de ovinos em algumas explorações e a possibilidade de haver transmissão cruzada entre as espécies, é imprescindível incluir no programa todos os pequenos ruminantes presentes na exploração.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em consideração os objectivos definidos para este estudo, podemos que:

- A prevalência da infecção pelos SRLV em caprinos de Trás-os-Montes e Alto Douro é elevada, especialmente na raça Serrana.
- Existe uma diferença significativa entre os resultados obtidos para as duas raças consideradas. A raça Serrana apresenta uma seroprevalência individual e percentagem de rebanhos infectados mais elevadas que a raça Bravia, sendo por isso necessário adaptar as medidas de controlo a cada uma das raças.
- A análise dos resultados obtidos nos inquéritos epidemiológicos revelou que estão presentes sinais clínicos potencialmente causados pela infecção por SRLV, embora não exista uma associação estatística significativa com o estatuto positivo do rebanho.
- Dado o impacto negativo da infecção por SRLV e a sua elevada prevalência, há todo o interesse em implementar um programa de controlo que envolva produtores, as suas associações e as autoridades oficiais.
- O programa de controlo deve ser adaptado às limitações apontadas na caracterização sumária dos efectivos e deverá incluir os ovinos presentes nas explorações.
- As medidas de controlo devem ser ajustadas a cada caso específico, tendo em vista a redução da seroprevalência nos rebanhos com níveis mais elevados, erradicação nos que apresentam prevalência mais baixa e consolidação do estatuto negativo nos de serologia negativa, com criação de alguns efectivos indemes que possam fornecer animais garantidamente isentos da infecção aos restantes produtores.
- O sucesso destes programas depende largamente da adesão e motivação dos produtores e das suas associações, bem como do envolvimento das autoridades oficiais.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abelson ML, Schoborg RV. Characterization of the caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) rev N-terminal elements required for efficient interaction with the RRE. *Virus Research*. 2003;92(1):23-35.
- Abreu SRO, Castro RS, Nascimento SA, Souza MG. Produção de antígeno nucleoproteico do vírus da artrite-encefalite caprina e comparação com o do vírus Maedi-Visna para utilização em teste de imunodifusão em agar gel. *PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA*. 1998;18(2):57-60.
- Adams DS, Crawford TB, Banks KL, McGuire TC, *et al.* Immune responses of goats persistently infected with caprine arthritis-encephalitis virus. *Infection and immunity*. 1980a; 28(2):421-7.
- Adams DS, Crawford TB, Klevjer-Anderson P. A pathogenetic study of the early connective tissue lesions of viral caprine arthritis-encephalitis. *The American journal of pathology*. 1980b; 99(2):257-78.
- Adams DS, Gogolewski RP, Barbet AF, Cheevers WP. Identification of caprine arthritis-encephalitis retrovirus proteins in immunodiffusion precipitin lines. *The Journal of general virology*. 1985; 66:1139-43.
- Adams DS, Gorham JR. The gp135 of caprine arthritis encephalitis virus affords greater sensitivity than the p28 in immunodiffusion serology. *Research in Veterinary Science*. 1986; 40(2):157-60.
- Adams DS, Klevjer-Anderson P, Carlson JL, McGuire TC, *et al.* Transmission and control of caprine arthritis-encephalitis virus. *American journal of veterinary research*. 1983; 44(9):1670-5.
- Adams DS, Oliver RE, Ameghino E, DeMartini JC, *et al.* Global survey of serological evidence of caprine arthritis-encephalitis virus infection. *The Veterinary record*. 1984; 115(19):493-5.
- Adeyemo O, Phadtare L, Williams C. The response of goat brain cells to infection by caprine arthritis-encephalitis virus. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)*. 1996; 42(8):1195-209.
- Al-Qudah K, Al-Majali AM, Ismail ZB. Epidemiological studies on caprine arthritis-encephalitis virus infection in Jordan. *SMALL RUMINANT RESEARCH*. 2006; 66(1-3):181-186.
- Ali Al Ahmad MZ, Chebloune Y, Bouzar BA, Baril G, *et al.* Lack of risk of transmission of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) after an appropriate embryo transfer procedure. *Theriogenology*. 2008a; 69(4):408-415.
- Ali Al Ahmad MZ, Fieni F, Guiguen F, Larrat M, *et al.* Cultured early goat embryos and cells are susceptible to infection with caprine encephalitis virus. *Virology*. 2006;353(2):307-315.
- Ali Al Ahmad MZ, Fieni F, Martignat L, Chatagnon G, *et al.* Proviral DNA of caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) is detected in cumulus oophorus cells but not in oocytes from naturally infected goats. *Theriogenology*. 2005; 64(7):1656-1666.
- Ali Al Ahmad MZ, Fieni F, Pellerin JL, Guiguen F, *et al.* Detection of viral genomes of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in semen and in genital tract tissues of male goat. *Theriogenology*. 2008b; 69(4):473-480.
- Anderson LW, Klevjer-Anderson P, Liggitt HD. Susceptibility of blood-derived monocytes and macrophages to caprine arthritis-encephalitis virus. *Infection and immunity*. 1983; 41(2):837-40.
- Angelopoulou K, Brellou GD, Greenland T, Vlemmas I. A novel deletion in the LTR region of a Greek small ruminant lentivirus may be associated with low pathogenicity. *Virus Research*. 2006; 118(1-2):178-184.
- Angelopoulou K, Poutahidis T, Brellou GD, Greenland T, *et al.* A deletion in the R region of long terminal repeats in small ruminant lentiviruses is associated with decreased pathology in the lung. *The Veterinary Journal*. 2008; 175(3):346-355.
- Archambault D, East N, Perk K, Dahlberg JE. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for caprine arthritis-encephalitis virus. *Journal of clinical microbiology*. 1988; 26(5):971-5.
- Arsenault J, Dubreuil P, Girard C, Simard C, *et al.* Maedi-visna impact on productivity in Quebec sheep flocks (Canada). *Prev Vet Med*. 2003; 59(3):125-37.
- Baba SS, Fotabe AI, Baba MM, Rimstad E. Preliminary survey for antibodies against caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) using recombinant GAG proteins: studies among small ruminant populations in north-eastern Nigeria. *Small Ruminant Research*. 2000; 37(1-2):137-140.

- Banks KL, Adams DS, McGuire TC, Carlson J. Experimental infection of sheep by caprine arthritis-encephalitis virus and goats by progressive pneumonia virus. *American journal of veterinary research*. 1983;44(12):2307-11.
- Barlough J, East N, Rowe JD, Van oosear K, *et al*. Double-nested polymerase chain reaction for detection of caprine arthritis-encephalitis virus proviral DNA in blood, milk, and tissues of infected goats. *Journal of Virological Methods*. 1994; 50(1-3):101-113.
- Barros SC, Andresdottir V, Fevereiro M. Cellular specificity and replication rate of Maedi Visna virus in vitro can be controlled by LTR sequences. *Arch Virol*. 2005;150(2): 201-13.
- Barros SC, Ramos F, Duarte M, Fagulha T, *et al*. Genomic characterization of a slow/low maedi visna virus. *Virus genes*. 2004; 29(2):199-210.
- Berger N, Heller AE, Stormann KD, Pfaff E. Characterization of chimeric enzymes between caprine arthritis-encephalitis virus, maedi-visna virus and human immunodeficiency virus type 1 integrases expressed in *Escherichia coli*. *J Gen Virol*. 2001; 82(1):139-148.
- Bergonier D, de Crémoux R, Rupp R, Lagriffoul G, *et al*. Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary research*. 2003; 34(5).
- Berriatua E, Alvarez V, Extramiana B, González L, *et al*. Transmission and control implications of seroconversion to Maedi-Visna virus in Basque dairy-sheep flocks. *Preventive Veterinary Medicine*. 2003; 60(4):265-79.
- Bertoni G (2007). Caprine Arthritis Encephalitis Complex. . In: Tempesta M. (Ed.), *Recent Advances in Goat Diseases*. Ithaca: International Veterinary Information Service (www.ivis.org).
- Bertoni G, Hertig C, Zahno M-L, Vogt H-R, *et al*. B-cell epitopes of the envelope glycoprotein of caprine arthritis-encephalitis virus and antibody response in infected goats. *J Gen Virol*. 2000;81(12):2929-2940.
- Bertoni G, Zahno ML, Zaroni R, Vogt HR, *et al*. Antibody reactivity to the immunodominant epitopes of the caprine arthritis-encephalitis virus gp38 transmembrane protein associates with the development of arthritis. *J. Virol*. 1994; 68(11):7139-7147.
- Beyer JC, Chebloune Y, Mselli-Lakhal L, Hötzel I, *et al*. Immunization with plasmid DNA expressing the caprine arthritis-encephalitis virus envelope gene: quantitative and qualitative aspects of antibody response to viral surface glycoprotein. *Vaccine*. 2001; 19(13-14):1643-1651.
- Bird P, Blacklaws B, Reyburn HT, Allen D, *et al*. Early events in immune evasion by the lentivirus maedi-visna occurring within infected lymphoid tissue. *J Virol*. 1993; 67(9):5187-97.
- Blacklaws BA, Berriatua E, Torsteinsdottir S, Watt NJ, *et al*. Transmission of small ruminant lentiviruses. *Veterinary Microbiology*. 2004; 101(3):199-208.
- Blacklaws BA, Bird P, Allen D, McConnell I. Circulating cytotoxic T lymphocyte precursors in maedi-visna virus-infected sheep. *J Gen Virol*. 1994; 75(7):1589-1596.
- Blacklaws BA, Bird P, Allen D, Roy DJ, *et al*. Initial lentivirus-host interactions within lymph nodes: a study of maedi-visna virus infection in sheep. *J. Virol*. 1995; 69(3):1400-1407.
- Bolea R, Monleón E, Carrasco L, Vargas A, *et al*. Maedi-visna virus infection of ovine mammary epithelial cells. *Vet. Res*. 2006; 37(1):133-144.
- Brinkhof JMA, van Maanen C, Wigger R, Peterson K, *et al*. Specific detection of small ruminant lentiviral nucleic acid sequences located in the proviral long terminal repeat and leader-gag regions using real-time polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*. 2008; 147(2):338-344.
- Brodie SJ, de la Concha-Bermejillo A, Koenig G, Snowden GD, *et al*. Maternal factors associated with prenatal transmission of ovine lentivirus. *The Journal of infectious diseases*. 1994; 169(3):653-7.
- Brodie SJ, Pearson LD, Zink MC, Bickle HM, *et al*. Ovine lentivirus expression and disease. Virus replication, but not entry, is restricted to macrophages of specific tissues. *Am J Pathol*. 1995;146(1):250-263.
- Carrozza ML, Mazzei M, Bandecchi P, Arispici M, *et al*. In situ PCR-associated immunohistochemistry identifies cell types harbouring the Maedi-Visna virus genome in tissue sections of sheep infected naturally. *J Virol Methods*. 2003;107(2):121-7.
- Carrozza ML, Mazzei M, Lacerenza D, Del Chiaro L, *et al*. Seroconversion against SU5 derived synthetic peptides in sheep experimentally infected with different SRLV genotypes. *Vet Microbiol*. 2009; 137(3-4):369-74.

- Castro RS, Greenland T, Leite RC, Gouveia A, *et al.* Conserved sequence motifs involving the tat reading frame of Brazilian caprine lentiviruses indicate affiliations to both caprine arthritis-encephalitis virus and visna-maedi virus. *J Gen Virol.* 1999; 80(7):1583-1589.
- Castro RS, Leite RC, Azevedo EOd, Resende M, *et al.* Seroconversion and seroreactivity patterns of dairy goats naturally exposed to caprine arthritis-encephalitis virus in Brazil. *Ciência Rural.* 2002; 32(4):603-607.
- Celer Jr V, Celer V, Nejedlá E, Bertoni G, Peterhans E, Zanoni R G. The detection of proviral DNA by semi-nested polymerase chain reaction and phylogenetic analysis of Czech Maedi-Visna Isolates Based on *gag* Gene Sequences. *Journal of Veterinary Medicine, Series B.* 2000; 47(3):203-215.
- CFSPH. Caprine Arthritis-Encephalitis 2007. <http://www.ivis.org>. Acesso em Junho 2009.
- Chebloune Y, Karr B, Sheffer D, Leung K, *et al.* Variations in Lentiviral Gene Expression in Monocyte-derived Macrophages from Naturally Infected Sheep. *J Gen Virol.* 1996a; 77(9):2037-2051.
- Chebloune Y, Sheffer D, Karr BM, Stephens E, *et al.* Restrictive Type of Replication of Ovine/Caprine Lentiviruses in Ovine Fibroblast Cell Cultures. *Virology.* 1996b; 222(1):21-30.
- Cheevers WP, Beyer JC, Hötzel I. Plasmid DNA encoding caprine interferon gamma inhibits antibody response to caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) surface protein encoded by a co-administered plasmid expressing CAEV *env* and *tat* genes. *Vaccine.* 2001; 19(23-24):3209-3215.
- Cheevers WP, Beyer JC, Knowles DP. Type 1 and type 2 cytokine gene expression by viral gp135 surface protein-activated T lymphocytes in caprine arthritis-encephalitis lentivirus infection. *J. Virol.* 1997; 71(8):6259-6263.
- Cheevers WP, Hötzel I, Beyer JC, Kumpula-McWhirter N. Immune response to caprine arthritis-encephalitis virus surface protein induced by coimmunization with recombinant vaccinia viruses expressing the caprine arthritis-encephalitis virus envelope gene and caprine interleukin-12. *Vaccine.* 2000; 18(23):2494-2503.
- Cheevers WP, Knowles DP, McGuire TC, Cunningham DR, *et al.* Chronic disease in goats orally infected with two isolates of the caprine arthritis-encephalitis lentivirus. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology. 1988; 58(5):510-7.
- Cheevers WP, Snekvik KR, Trujillo JD, Kumpula-McWhirter NM, *et al.* Prime-boost vaccination with plasmid DNA encoding caprine-arthritis encephalitis lentivirus *env* and viral SU suppresses challenge virus and development of arthritis. *Virology.* 2003; 306(1):116-125.
- Clavijo A, Thorsen J. Application of polymerase chain reaction for the diagnosis of caprine arthritis-encephalitis. *Small Ruminant Research.* 1996; 22(1):69-77.
- Clements JE, Zink MC. Molecular biology and pathogenesis of animal lentivirus infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 1996; 9(1):100-117.
- Clements JE, Zink MC, Narayan O, Gabuzda DH. Lentivirus infection of macrophages. *Immunology series.* 1994; 60: 589-600.
- Contreras A, Corrales JC, Sánchez A, Adúriz JJ, *et al.* Caprine arthritis-encephalitis in an indigenous Spanish breed of dairy goat. *The Veterinary record.* 1998; 142(6):140-2.
- Contreras A, Paape MJ, Miller RH. Prevalence of subclinical intramammary infection caused by *Staphylococcus epidermidis* in a commercial dairy goat herd. *Small Ruminant Research.* 1999; 31(3):203-208.
- Crawford TB, Adams DS. Caprine arthritis-encephalitis: clinical features and presence of antibody in selected goat populations. *Journal of the American Veterinary Medical Association.* 1981; 178(7):713-9.
- Crawford TB, Adams DS, Sande RD, Gorham JR, *et al.* The connective tissue component of the caprine arthritis-encephalitis syndrome. *The American journal of pathology.* 1980;100(2):443-54.
- Cutlip RC, Lehmkuhl HD, Sacks JM, Weaver AL. Prevalence of antibody to caprine arthritis-encephalitis virus in goats in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association.* 1992; 200(6):802-5.
- Dahlberg JE, Gaskin JM, Perk K. Morphological and immunological comparison of caprine arthritis encephalitis and ovine progressive pneumonia viruses. *Journal of Virology.* 1981;39(3):914-9.
- Daltabuit Test M, de la Concha-Bermejillo A, Espinosa LE, Loza Rubio E, *et al.* Isolation of caprine arthritis encephalitis virus from goats in Mexico *Canadian journal of veterinary research.* 1999;63(3):212-5.

- Davies JM, Robinson WF, Carnegie PR. Antibody reactivity to the transmembrane protein of the caprine arthritis encephalitis virus correlates with severity of arthritis: no evidence for the involvement of epitope mimicry. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1997;60(1-2):131-147.
- Dawson M, Wilesmith JW. Serological survey of lentivirus (maedi-visna/caprine arthritis-encephalitis) infection in British goat herds. *The Veterinary record*. 1985;117(4):86-9.
- de Andrés D, Klein D, Watt NJ, Berriatua E, *et al*. Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. *Veterinary Microbiology*. 2005;107(1-2):49-62.
- DeMartini JC, Halsey W, Boshoff C, York D, *et al*. Comparison of a maedi-visna virus CA-TM fusion protein ELISA with other assays for detecting sheep infected with North American ovine lentivirus strains. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1999;71(1):29-40.
- Denner J. Transspecies transmissions of retroviruses: New cases. *Virology*. 2007;369(2):229-233.
- Ding EY, Xiang WH. Immune Responses in Goats to Caprine Arthritis-Encephalitis Virus. *Viral immunology*. 1997; 10(2):111.
- Dolf G, Ruff G. A DNA fingerprinting band associated with the susceptibility to CAE virus-induced arthritis in goats. *The British veterinary journal*. 1994;150(4).
- East NE, Rowe JD, Madewell BR, Floyd K. Serologic prevalence of caprine arthritis-encephalitis virus in California goat dairies. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1987;190(2):182-6.
- Ellis TM. Blood leukocyte infection rates in caprine arthritis-encephalitis virus-infected goats. *Australian veterinary journal*. 1990; 67(8):302-3.
- Ellis TM, Carman H, Robinson WF, Wilcox GE. The effect of colostrum-derived antibody on neo-natal transmission of caprine arthritis-encephalitis virus infection. *Australian veterinary journal*. 1986;63(8):242-5.
- Ellis TM, Robinson WF, Wilcox GE. Comparison of caprine arthritis-encephalitis viruses from goats with arthritis and goats with chronic interstitial pneumonia. *Australian veterinary journal*. 1988a; 65(8):254-7.
- Ellis TM, Robinson WF, Wilcox GE. The pathology and aetiology of lung lesions in goats infected with caprine arthritis-encephalitis virus. *Australian veterinary journal*. 1988b; 65(3):69-73.
- Ellis TM, Wilcox GE, Robinson WF. Antigenic Variation of Caprine Arthritis-Encephalitis Virus during Persistent Infection of Goats. *J Gen Virol*. 1987; 68(12):3145-3152.
- Eltahir YM, Dovas CI, Papanastassopoulou M, Koumbati M, *et al*. Development of a semi-nested PCR using degenerate primers for the generic detection of small ruminant lentivirus proviral DNA. *Journal of Virological Methods*. 2006; 135(2):240-246.
- Erhouma E, Guiguen F, Chebloune Y, Gauthier D, *et al*. Small ruminant lentivirus proviral sequences from wild ibexes in contact with domestic goats. *J Gen Virol*. 2008; 89(6):1478-1484.
- Eriksson K, McInnes E, Ryan S, Tonks P, *et al*. CD4(+) T-cells are required for the establishment of maedi-visna virus infection in macrophages but not dendritic cells in vivo. *Virology*. 1999a;258(2):355-64.
- Eriksson K, McInnes E, Ryan S, Tonks P, *et al*. In vivo depletion of CD8+ cells does not affect primary maedi visna virus infection in sheep. *Vet Immunol Immunopathol*. 1999b;70(3-4):173-87.
- Fautrière G, Ouellet C, Yersin Y (2007). Développement d'un programme de certification sanitaire pour l'arthrite encéphalite caprine (AEC). Québec Cplddlad. St Hyacinthe.
- Feverieiro M. Louping-ill e CAEV - duas viroses importantes dos pequenos ruminantes. XIII Jornadas da Associação Portuguesa de Buiatria. Póvoa do Varzim. 2009
- Feverieiro M, Barros S, Fagulha T. Development of a monoclonal antibody blocking-ELISA for detection of antibodies against Maedi-Visna virus. *Journal of Virological Methods*. 1999;81(1-2):101-108.
- Feverieiro M, Barros SB. Caracterização biológica e molecular de um lentivírus de ovino isolado em Portugal. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. 2004; 99(549):27-39.
- Fieni F, Rowe J, Van Hoosear K, Burucoa C, *et al*. Presence of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) infected cells in flushing media following oviductal-stage embryo collection. *Theriogenology*. 2002;57(2):931-940.
- Fieni F, Rowe J, Van Hoosear K, Burucoa C, *et al*. Presence of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) proviral DNA in genital tract tissues of superovulated dairy goat does. *Theriogenology*. 2003;59(7):1515-1523.

- Fluri A, Nenci C, Zahno M-L, Vogt H-R, *et al.* The MHC-haplotype influences primary, but not memory, immune responses to an immunodominant peptide containing T- and B-cell epitopes of the caprine arthritis encephalitis virus Gag protein. *Vaccine*. 2006; 24(5):597-606.
- Gelman IH, Zhang J, Hailman E, Hanafusa H. Identification and Evaluation of New Primer Sets for the Detection of Lentivirus Proviral DNA. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 1992; 8(12):1981.
- Gendelman HE, Narayan O, Molineaux S, Clements JE, *et al.* Slow, persistent replication of lentiviruses: role of tissue macrophages and macrophage precursors in bone marrow. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1985; 82(20):7086-90.
- Gendleman HE, Narayan O, Kennedy-Stoskopf S, Kennedy PG, *et al.* Tropism of Sheep Lentiviruses for Monocytes: Susceptibility to Infection and Virus Gene Expression Increase during Maturation of Monocytes to Macrophages. *Journal of Virology*. 1986; 58(1): 67-74.
- Gendleman HE, Narayan O, Molineaux SM, Clements JE, *et al.* Slow, persistent replication of lentiviruses: Role of tissue macrophages and macrophage precursors in bone marrow. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1985;82:7086-7090.
- Germain K, Valas S. Distribution and heterogeneity of small ruminant lentivirus envelope subtypes in naturally infected French sheep. *Virus Research*. 2006; 120(1-2):156-162.
- Girard MP, Osmanov SK, Kieny MP. A review of vaccine research and development: the human immunodeficiency virus (HIV). *Vaccine*. 2006; 24(19):4062-81.
- Gjerset B, Jonassen CM, Rimstad E. Natural transmission and comparative analysis of small ruminant lentiviruses in the Norwegian sheep and goat populations. *Virus Research*. 2007;125(2):153-161.
- Gjerset B, Rimstad E, Teige J, Soetaert K, *et al.* Impact of natural sheep-goat transmission on detection and control of small ruminant lentivirus group C infections. *Veterinary Microbiology*. 2008; In Press, Corrected Proof.
- Glaria I, Reina R, Crespo H, de Andrés X, *et al.* Phylogenetic analysis of SRLV sequences from an arthritic sheep outbreak demonstrates the introduction of CAEV-like viruses among Spanish sheep. *Veterinary Microbiology*. 2009; 138(1-2):156-162.
- Gogolewski RP, Adams DS, McGuire TC, Banks KL, *et al.* Antigenic cross-reactivity between caprine arthritis-encephalitis, visna and progressive pneumonia viruses involves all virion-associated proteins and glycoproteins. *The Journal of general virology*. 1985; 66: 1233-40.
- González B, Reina R, García I, Andrés S, *et al.* Mucosal immunization of sheep with a Maedi-Visna virus (MVV) env DNA vaccine protects against early MVV productive infection. *Vaccine*. 2005; 23(34):4342-52.
- Greenwood PL. Effects of caprine arthritis-encephalitis virus on productivity and health of dairy goats in New South Wales, Australia. *Preventive Veterinary Medicine*. 1995;22(1-2):71-87.
- Greenwood PL, North RN, Kirkland PD. Prevalence, spread and control of caprine arthritis-encephalitis virus in dairy goat herds in New South Wales. *Australian veterinary journal*. 1995;72(9):341.
- Grego E, Bertolotti L, Carrozza ML, Profiti M, *et al.* Genetic and antigenic characterization of the matrix protein of two genetically distinct ovine lentiviruses. *Veterinary Microbiology*. 2005;106(3-4):179-185.
- Grego E, Bertolotti L, Quasso A, Profiti M, *et al.* Genetic characterization of small ruminant lentivirus in Italian mixed flocks: evidence for a novel genotype circulating in a local goat population. *The Journal of general virology*. 2007; 88(Pt):3423-7.
- Grego E, Profiti M, Giammarioli M, Giannino L, *et al.* Genetic heterogeneity of small ruminant lentiviruses involves immunodominant epitope of capsid antigen and affects sensitivity of single-strain-based immunoassay. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 2002; 9(4):828-32.
- Grewal AS. Comparison of two gel diffusion precipitin tests in the serodiagnosis of caprine arthritis encephalitis virus infection in goats. *Australian veterinary journal*. 1986a; 63(10):341-2.
- Grewal AS. Two distinct gel diffusion precipitin tests for diagnosis of retro virus infection in goats. *Australian veterinary journal*. 1986b; 63(3):86-88.
- Grewal AS, Burton R. W. SJE, Batty E. M. Greenwood P. E. North R. Caprine retrovirus infection in New South Wales: Virus isolations, clinical and histopathological findings and prevalence of antibody. *Australian veterinary journal*. 1986; 63(7):245-248.
- Grezel D, Forestier J, Guiguen F, Mornex J-F. T-lymphocyte populations in the blood of caprine arthritis encephalitis virus-infected goats. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1997; 57(1-2):99-104.

- Grossi P, Giudice C, Bertoletti I, Cioccarelli G, *et al.* Immunohistochemical Detection of the p27 Capsid Protein of Caprine Arthritis-Encephalitis Virus (CAEV) in Bone-marrow Cells of Seropositive Goats. *Journal of Comparative Pathology*. 2005; 133(2-3):197-200.
- Gudmundsson B, Bjarnadottir H, Kristjansdottir S, Jonsson JJ. Quantitative assays for maedi-visna virus genetic sequences and mRNA's based on RT-PCR with real-time FRET measurements. *Virology*. 2003; 307(1):135.
- Gufler H, Gasteiner J, Lombardo D, Stifter E, *et al.* Serological study of small ruminant lentivirus in goats in Italy. *Small Ruminant Research*. 2007; 73(1-3):169-173.
- Guiguen F, Mselli-Lakhal L, Durand J, Du J, *et al.* Experimental infection of Mouflon-domestic sheep hybrids with caprine arthritis-encephalitis virus. *Am J Vet Res*. 2000; 61(4):456-61.
- Gunson RN, Collins TC, Carman WF. Practical experience of high throughput real time PCR in the routine diagnostic virology setting. *J Clin Virol*. 2006; 35(4):355-67.
- Haase AT. Pathogenesis of lentivirus infections. *Nature*. 1986;322(6075):10-16.
- Haase AT, Retzel EF, Staskus KA. Amplification and detection of lentiviral DNA inside cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1990; 87(13):4971-5.
- Hare S, Di Nunzio F, Labeja A, Wang J, *et al.* Structural basis for functional tetramerization of lentiviral integrase. *PLoS Pathog*. 2009; 5(7):e1000515.
- Harmache A, Vitu C, Guiguen F, Russo P, *et al.* Priming with tat-Deleted Caprine Arthritis Encephalitis Virus (CAEV) Proviral DNA or Live Virus Protects Goats from Challenge with Pathogenic CAEV. *Journal of Virology*. 1998; 72(8):6796-6804.
- Harmache A, Vitu C, Russo P, Bouyac M, *et al.* The caprine arthritis encephalitis virus tat gene is dispensable for efficient viral replication in vitro and in vivo. *J. Virol*. 1995;69(9):5445-5454.
- Hasenkrug KJ, Chesebro B. Immunity to retroviral infection: the Friend virus model. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94(15):7811-6.
- Haziza B, Chauvin JP, Gluschankof P, Suzan M. Caprine arthritis encephalitis virus: evidence for a B/D-type assembly pathway in a C-type lentivirus replication. *Virology*. 2001;286(2):434-45.
- Heckert RA, McNab WB, Richardson SM, Briscoe MR. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus in goat serum. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire*. 1992; 56(3):237-41.
- Herrmann LM, Cheevers WP, Marshall KL, McGuire TC, *et al.* Detection of serum antibodies to ovine progressive pneumonia virus in sheep by using a caprine arthritis-encephalitis virus competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 2003a; 10(5):862-5.
- Herrmann LM, Cheevers WP, McGuire TC, Adams DS, *et al.* Competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus: diagnostic tool for successful eradication. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 2003b; 10(2):267-71.
- Hess JL, Pyper JM, Clements JE. Nucleotide sequence and transcriptional activity of the caprine arthritis-encephalitis virus long terminal repeat. *Journal of Virology*. 1986;60(2):385-393.
- Holmes RK, Malim MH, Bishop KN. APOBEC-mediated viral restriction: not simply editing? *Trends in biochemical sciences*. 2007; 32(3):118.
- Hom RC, Finberg RW, Mullaney S, Ruprecht RM. Protective cellular retroviral immunity requires both CD4+ and CD8+ immune T cells. *J Virol*. 1991;65(1):220-4.
- Hotzel I, Cheevers W. Differential receptor usage of small ruminant lentiviruses in ovine and caprine cells: host range but not cytopathic phenotype is determined by receptor usage. *Virology*. 2002; 301(1):21-31.
- Hotzel I, Cheevers WP. Host Range of Small-Ruminant Lentivirus Cytopathic Variants Determined with a Selectable Caprine Arthritis- Encephalitis Virus Pseudotype System. *J. Virol*. 2001; 75(16):7384-7391.
- Hotzel I, Cheevers WP. Mutations increasing exposure of a receptor binding site epitope in the soluble and oligomeric forms of the caprine arthritis-encephalitis lentivirus envelope glycoprotein. *Virology*. 2005; 339(2):261-72.
- Houwens DJ, Pekelder JJ, Akkermans JW, van der Molen EJ, *et al.* Incidence of indurative lymphocytic mastitis in a flock of sheep infected with maedi-visna virus. *The Veterinary record*. 1988; 122(18):435-7.

- Hullinger GA, Knowles DP, McGuire TC, Cheevers WP. Caprine Arthritis-Encephalitis Lentivirus SU Is the Ligand for Infection of Caprine Synovial Membrane Cells. *Virology*. 1993; 192(1):328-331.
- Huso DL, Narayan O, Hart GW. Sialic acids on the surface of caprine arthritis-encephalitis virus define the biological properties of the virus. *Journal of Virology*. 1988; 62(6):1974-1980.
- ICTVdB. (2006). "The Universal Virus Database, version 4." <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdb/>. Acesso Maio 2009.
- Johnson GC, Adams DS, McGuire TC. Pronounced production of polyclonal immunoglobulin G1 in the synovial fluid of goats with caprine arthritis-encephalitis virus infection. *Infection and immunity*. 1983a; 41(2):805-15.
- Johnson GC, Barbet AF, Klevjer-Anderson P, McGuire TC. Preferential immune response to virion surface glycoproteins by caprine arthritis-encephalitis virus-infected goats. *Infection and immunity*. 1983b; 41(2):657-65.
- Jolly PE, Gangopadhyay A, Chen S, Gopal Reddy P, *et al.* Changes in the leukocyte phenotype profile of goats infected with the caprine arthritis encephalitis virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1997; 56(1-2):97-106.
- Jolly PE, Huso D, Hart G, Narayan O. Modulation of Lentivirus Replication by Antibodies. Non-neutralizing Antibodies to Caprine Arthritis-Encephalitis Virus Enhance Early Stages of Infection in Macrophages, but Do Not Cause Increased Production of Virions. *J Gen Virol*. 1989; 70(8):2221-2226.
- Jolly PE, Narayan O. Evidence for interference, coinfections, and intertypic virus enhancement of infection by ovine-caprine lentiviruses. *J. Virol*. 1989; 63(11):4682-4688.
- Juste RA, Kwang J, de la Concha-Bermejillo A. Dynamics of cell-associated viremia and antibody response during the early phase of lentivirus infection in sheep. *American journal of veterinary research*. 1998; 59(5):563-8.
- Juste RA, Ott TL, Kwang J, Bazer FW, *et al.* Effects of recombinant ovine interferon- τ on ovine lentivirus replication and progression of disease. *J Gen Virol*. 2000; 81(2):525-532.
- Karr BM, Chebloune Y, Leung K, Narayan O. Genetic Characterization of Two Phenotypically Distinct North American Ovine Lentiviruses and Their Possible Origin from Caprine Arthritis-Encephalitis Virus. *Virology*. 1996; 225(1):1-10.
- Kemp RK, Knowles DP, Perry LL, McGuire TC, *et al.* Crossreactive neutralizing antibodies induced by immunization with caprine arthritis-encephalitis virus surface glycoprotein. *Vaccine*. 2000; 18(13):1282-1287.
- Kennedy-Stoskopf S, Narayan O. Neutralizing antibodies to visna lentivirus: mechanism of action and possible role in virus persistence. *J Virol*. 1986; 59(1):37-44.
- Kennedy-Stoskopf S, Zink C, Narayan O. Pathogenesis of ovine lentivirus-induced arthritis: Phenotypic evaluation of T lymphocytes in synovial fluid, synovium, and peripheral circulation. *Clinical Immunology and Immunopathology*. 1989; 52(2):323-330.
- Klevjer-Anderson P, Adams DS, Anderson LW, Banks KL, *et al.* A Sequential Study of Virus Expression in Retrovirus-induced Arthritis of Goats. *J Gen Virol*. 1984; 65(9):1519-1525.
- Klevjer-Anderson P, Anderso LW. Caprine Arthritis-Encephalitis Virus Infection of Caprine Monocytes. *J Gen Virol*. 1982; 58(1):195-198.
- Knowles D, Jr., Cheevers W, McGuire T, Stem T, *et al.* Severity of arthritis is predicted by antibody response to gp135 in chronic infection with caprine arthritis-encephalitis virus. *J. Virol*. 1990; 64(5):2396-2398.
- Knowles DP, Jr. Laboratory diagnostic tests for retrovirus infections of small ruminants. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*. 1997; 13(1):1-11.
- Knowles DP, Jr., Evermann JF, Shropshire C, VanderSchalie J, *et al.* Evaluation of agar gel immunodiffusion serology using caprine and ovine lentiviral antigens for detection of antibody to caprine arthritis-encephalitis virus. *Journal of clinical microbiology*. 1994; 32(1):243-5.
- Krieg A, Peterhans E. Caprine Arthritis-Encephalitis in witzerland: Epidemiological and clinical studies. *Schweiz Arch Tierheilkd*. 1990; 132(7):345-52.
- Kristbjörnsdóttir HB, Andrésdóttir V, Svansson V, Torsteinsdóttir S, *et al.* The vif gene of maedi-visna virus is essential for infectivity in vivo and in vitro. *Virology*. 2004; 318(1):350-359.

- Kuzmak J, Rola M, Gallay K, Chebloune Y. Molecular characterization of lentiviruses from goats from Poland based on gag gene sequence analysis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2007; 30(4):211-223.
- Lacerenza D, Genovese F, Profiti M, Nucera D, *et al.* Characterization of an immunodominant epitope of small ruminant lentivirus (SRLV) nucleoprotein. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2008; 125(3-4):361-367.
- Lacerenza D, Giammarioli M, Grego E, Marini C, *et al.* Antibody response in sheep experimentally infected with different small ruminant lentivirus genotypes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2006; 112(3-4):264-271.
- Lamara A, Fieni F, Mselli-Lakhal L, Chatagnon G, *et al.* Early embryonic cells from in vivo-produced goat embryos transmit the caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV). *Theriogenology*. 2002a; 58(6):1153-1163.
- Lamara A, Fieni F, Mselli-Lakhal L, Tainturier D, *et al.* Efficient replication of caprine arthritis-encephalitis virus in goat granulosa cells. *Virus Research*. 2001; 79(1-2):165-172.
- Lamara A, Fieni F, Mselli-Lakhal L, Tainturier D, *et al.* Epithelial cells from goat oviduct are highly permissive for productive infection with caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV). *Virus Research*. 2002b; 87(1):69-77.
- Le Jan C, Bellaton C, Greenland T, Mornex JF. Mammary transmission of caprine arthritis encephalitis virus: a 3D model for in vitro study. *Reproduction, nutrition, development*. 2005; 45(4).
- Lechat E, Milhau N, Brun P, Bellaton C, *et al.* Goat endothelial cells may be infected in vitro by transmigration of caprine arthritis-encephalitis virus-infected leucocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2005; 104(3-4):257-263.
- Lechner F, Machado J, Bertoni G, Seow HF, *et al.* Caprine arthritis encephalitis virus dysregulates the expression of cytokines in macrophages. *Journal of Virology*. 1997a; 71(10):7488-7497.
- Lechner F, Vogt HR, Seow HF, Bertoni G, *et al.* Expression of cytokine mRNA in lentivirus-induced arthritis. *The American journal of pathology*. 1997b; 151(4):1053-65.
- Lechner F, Vogt HR, Seow HF, von Bodungen U, *et al.* Expression of TNF alpha in arthritis caused by caprine arthritis encephalitis virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1996; 54(1-4):1-4.
- Leitner G, Krifucks O, Weisblit L, Lavi Y, *et al.* The effect of caprine arthritis encephalitis virus infection on production in goats. *The Veterinary Journal*. 2009; In Press, Corrected Proof.
- Lerondelle C, Greenland T, Jane M, Mornex JF. Infection of Lactating Goats by Mammary Instillation of Cell-Borne Caprine Arthritis-Encephalitis Virus. *J. Dairy Sci*. 1995;78(4):850-855.
- Leroux C, Chastang J, Greenland T, Mornex JF. Genomic heterogeneity of small ruminant lentiviruses: existence of heterogeneous populations in sheep and of the same lentiviral genotypes in sheep and goats. *Archives of virology*. 1997a; 142(6):1125-37.
- Leroux C, Lerondelle C, Chastang J, Mornex JF. RT-PCR detection of lentiviruses in milk or mammary secretions of sheep or goats from infected flocks. *Veterinary research*. 1997b; 28(2):115-21.
- Leroux C, Mornex JF. Retroviral infections in sheep and the associated diseases. *Small Ruminant Research*. 2008; 76(1-2):68-76.
- Lichtensteiger CA, Cheevers WP, Davis WC. CD8+ cytotoxic T lymphocytes against antigenic variants of caprine arthritis-encephalitis virus. *J Gen Virol*. 1993; 74(10):2111-2116.
- Lilenbaum W, de Souza GN, Ristow P, Cortez Moreira M, *et al.* A serological study on Brucella abortus, caprine arthritis-encephalitis virus and Leptospira in dairy goats in Rio de Janeiro, Brazil. *The Veterinary Journal*. 2007; 173(2):408-412.
- Louie KA, Dadgari JM, DeBoer BM, Weisbuch H, *et al.* Caprine arthritis-encephalitis virus-infected goats can generate human immunodeficiency virus-gp120 cross-reactive antibodies. *Virology*. 2003; 315(1):217-223.
- Malher X, Seegers H, Beaudeau F. Culling and mortality in large dairy goat herds managed under intensive conditions in western France. *Livestock Production Science*. 2001; 71(1):75-86.
- McGuire TC, Knowles DP, Jr., Davis WC, Brassfield AL, *et al.* Transmembrane protein oligomers of caprine arthritis-encephalitis lentivirus are immunodominant in goats with progressive arthritis. *Journal of Virology*. 1992; 66(5):3247-50.

- McGuire TC, Norton LK, O'Rourke KI, Cheevers WP. Antigenic variation of neutralization-sensitive epitopes of caprine arthritis-encephalitis lentivirus during persistent arthritis. *Journal of Virology*. 1988; 62(9):3488-3492.
- Merck, Co (2000). The Merck veterinary manual/CD-ROM. Whitehouse Station, N.J., Merck & Co., in cooperation with Merial Ltd.
- Milhau N, Bellaton C, Balleydier S, Gaonach M, *et al.* In vitro infection of aortic endothelial cells by caprine arthritis encephalitis virus enhances in vitro transmigration of peripheral blood leukocytes and modulates their phenotypic expression. *Veterinary research*. 2003; 34(3).
- Milhau N, Renon P, Dreesen I, Greenland T, *et al.* Viral expression and leukocyte adhesion after in vitro infection of goat mammary gland cells with caprine arthritis-encephalitis virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2005; 103(1-2):93-99.
- Modolo JR, Stachissini AVM, Padovani CR, Araujo Júnior JP, *et al.* PCR associated with agar gel immunodiffusion assay improve caprine arthritis-encephalitis (CAEV) control. *Small Ruminant Research*. 2008;In Press, Corrected Proof.
- Mordasini F, Vogt H-R, Zahno M-L, Maeschli A, *et al.* Analysis of the Antibody Response to an Immunodominant Epitope of the Envelope Glycoprotein of a Lentivirus and Its Diagnostic Potential. *Journal of clinical microbiology*. 2006; 44(3):981.
- Morin T, Guiguen F, Bouzar BA, Villet S, *et al.* Clearance of a Productive Lentivirus Infection in Calves Experimentally Inoculated with Caprine Arthritis-Encephalitis Virus. *J. Virol*. 2003; 77(11): 6430-6437.
- Motha MX, Ralston JC. Evaluation of ELISA for detection of antibodies to CAEV in milk. *Veterinary Microbiology*. 1994; 38(4):359-67.
- Mselli-Lakhal L, Guiguen F, Fornazero C, Du J, *et al.* Goat Milk Epithelial Cells Are Highly Permissive to CAEV Infection in Vitro. *Virology*. 1999; 259(1):67-73.
- Mselli-Lakhal L, Guiguen F, Fornazero C, Favier C, *et al.* Immortalized goat milk epithelial cell lines replicate CAEV at high level. *Veterinary research*. 2001; 32(5):429.
- Mselli-Lakhal L, Guiguen F, Greenland T, Mornex J-F, *et al.* In vitro cross-species infections using a caprine arthritis encephalitis lentivirus carrying the GFP marker gene. *Journal of Virological Methods*. 2007; 143(1):11-15.
- Murphy B, Jasmer DP, White SN, Knowles D. Localization of a TNF-activated transcription site and interactions with the gamma activated site within the CAEV U3 70 base pair repeat. *Virology*. 2007;364(1):196-207.
- Murphy BG, Hötzel I, Jasmer DP, Davis WC, *et al.* TNF[alpha] and GM-CSF-induced activation of the CAEV promoter is independent of AP-1. *Virology*. 2006; 352(1):188-199.
- Myers-Evert DK, Herrmann-Hoesing LM. Ovine progressive pneumonia virus capsid is B-cell immunodominant using Western blot analysis: A comparison of sensitivity between Western blot analysis and immunoprecipitation. *Journal of Virological Methods*. 2006; 137(2):339-342.
- Narayan O, Clements JE. Biology and pathogenesis of lentiviruses. *The Journal of general virology*. 1989; 70:1617-39.
- Narayan O, Clements JE, Strandberg JD, Cork LC, *et al.* Biological Characterization of the Virus Causing Leukoencephalitis and Arthritis in Goats. *J Gen Virol*. 1980; 50(1):69-79.
- Narayan O, Cork LC. Caprine Arthritis-Encephalitis Virus. In, eds. *Virus Infections of Ruminants*. Dinter, Z Morein, B Amsterdam - Oxford - New York - Tokio: Elsevier Science Publishers B. V., 1990:p 441-451.
- Narayan O, Kennedy-Stoskopf S, Sheffer D, Griffin DE, *et al.* Activation of caprine arthritis-encephalitis virus expression during maturation of monocytes to macrophages. *Infection and immunity*. 1983; 41(1):67-73.
- Narayan O, Sheffer D, Clements JE, Tennekoon G. Restricted replication of lentiviruses. Visna viruses induce a unique interferon during interaction between lymphocytes and infected macrophages. *J Exp Med*. 1985; 162(6):1954-69.
- Narayan O, Sheffer D, Griffin DE, Clements J, *et al.* Lack of neutralizing antibodies to caprine arthritis-encephalitis lentivirus in persistently infected goats can be overcome by immunization with inactivated *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Virol*. 1984; 49(2):349-355.

- Narayan O, Wolinsky JS, Clements JE, Strandberg JD, *et al.* Slow Virus Replication: the Role of Macrophages in the Persistence and Expression of Visna Viruses of Sheep and Goats. *J Gen Virol.* 1982; 59(2):345-356.
- Narayan O, Zink MC, Huso D, Sheffer D, *et al.* Lentiviruses of animals are biological models of the human immunodeficiency viruses. *Microbial Pathogenesis.* 1988; 5(3):149-157.
- Nenci C, Zahno ML, Vogt HR, Obexer-Ruff G, *et al.* Vaccination with a T-cell-priming Gag peptide of caprine arthritis encephalitis virus enhances virus replication transiently in vivo. *The Journal of general virology.* 2007; 88:1589-1593.
- Niesalla H, de Andrés X, Barbezange C, Fraiser C, *et al.* Systemic DNA immunization against ovine lentivirus using particle-mediated epidermal delivery and modified vaccinia Ankara encoding the gag and/or env genes. *Vaccine.* 2009; 27(2):260-269.
- Nord K, Adnøy T. Effects of Infection by Caprine Arthritis-Encephalitis Virus on Milk Production of Goats. *Journal of dairy science.* 1997; 80(10):2391.
- Nord K, Løken T, Orten Å. Control of caprine arthritis-encephalitis virus infection in three Norwegian goat herds. *Small Ruminant Research.* 1998a; 28(2):109-114.
- Nord K, Rimstad E, K. Storset A, Løken T. Prevalence of antibodies against caprine arthritis-encephalitis virus in goat herds in Norway. *Small Ruminant Research.* 1998b; 28(2):115-121.
- Norman S, Smith MC. Caprine arthritis-encephalitis: review of the neurologic form in 30 cases. *Journal of the American Veterinary Medical Association.* 1983; 182(12):1342-5.
- OIE - Office International des Épizooties. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals : mammals, birds and bees. Office international des épizooties. Paris, 2008:
- Ozyoruk F, Cheevers WP, Hullinger GA, McGuire TC, *et al.* Monoclonal antibodies to conformational epitopes of the surface glycoprotein of caprine arthritis-encephalitis virus: potential application to competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies in goat sera. *Clinical and diagnostic laboratory immunology.* 2001; 8(1):44-51.
- Palsson PA. Maedi-visna. *J Clin Pathol Suppl (R Coll Pathol).* 1972; 6:115-20.
- Pasick J. Maedi-visna virus and caprine arthritis-encephalitis virus: distinct species or quasispecies and its implications for laboratory diagnosis. *Canadian journal of veterinary research.* 1998; 62(4):241-4.
- Patrick MK, Johnston JB, Power C. Lentiviral Neuropathogenesis: Comparative Neuroinvasion, Neurotropism, Neurovirulence, and Host Neurosusceptibility. *J. Virol.* 2002; 76(16):7923-7931.
- Peluso R, Haase A, Stowring L, Edwards M, *et al.* A Trojan Horse mechanism for the spread of visna virus in monocytes. *Virology.* 1985; 147(1):231-6.
- Pépin M, Vitu C, Russo P, Mornex JF, *et al.* Maedi-visna virus infection in sheep: a review. *Veterinary research.* 1998; 29(3-4).
- Peretz G, Bugnard F, Calavas D. Study of a prevention programme for caprine arthritis-encephalitis. *Veterinary research.* 1994;25(2/3):322.
- Perry LL, Wilkerson MJ, Hullinger GA, Cheevers WP. Depressed CD4+ T lymphocyte proliferative response and enhanced antibody response to viral antigen in chronic lentivirus-induced arthritis. *J Infect Dis.* 1995;171(2):328-34.
- Peterhans E, Greenland T, Badiola J, Harkiss G, *et al.* Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. *Veterinary research.* 2004; 35(3).
- Peterson K, Brinkhof J, Houwers DJ, Colenbrander B, *et al.* Presence of pro-lentiviral DNA in male sexual organs and ejaculates of small ruminants. *Theriogenology.* 2008; 69(4):433-442.
- Pétursson G, Georggsson G, Pálsson PA. Maedi-Visna Virus. In, eds. *Virus Infections of Ruminants.* Dinter Z, Morein B, Amsterdam - Oxford - New York - Tokio: Elsevier Science Publishers B. V., 1990:p 431-440.
- Pétursson G, Matthíasdóttir S, Svansson V, Andrésdóttir V, *et al.* Mucosal vaccination with an attenuated maedi-visna virus clone. *Vaccine.* 2005; 23(24): 3223-8.
- Pinheiro RR, Gouveia AMG, Alves FSF. Prevalencia da infeccao pelo virus da artrite encefalite caprina no Estado do Ceara, Brasil. *Ciência Rural.* 2001; 31(3): 449-454.

- Pisoni G, Bertoni G, Puricelli M, Maccalli M, *et al.* Demonstration of Coinfection with and Recombination by Caprine Arthritis-Encephalitis Virus and Maedi-Visna Virus in Naturally Infected Goats. *Journal of Virology*. 2007; 81(10): 4948-4955.
- Pisoni G, Quasso A, Moroni P. Phylogenetic analysis of small-ruminant lentivirus subtype B1 in mixed flocks: Evidence for natural transmission from goats to sheep. *Virology*. 2005; 339(2):147-152.
- Ponti W, Paape M, Bronzo V, Pisoni G, *et al.* Phenotypic alteration of blood and milk leukocytes in goats naturally infected with caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV). *Small Ruminant Research*. 2008; 78(1-3):176-180.
- Pyper JM, Clements JE, Gonda MA, Narayan O. Sequence homology between cloned caprine arthritis encephalitis virus and visna virus, two neurotropic lentiviruses. *Journal of Virology*. 1986; 58(2):665-670.
- Pyper JM, Clements JE, Molineaux SM, Narayan O. Genetic variation among lentiviruses: homology between visna virus and caprine arthritis-encephalitis virus is confined to the 5' gag-pol region and a small portion of the env gene. *J. Virol*. 1984; 51(3):713-721.
- Querat G, Barban V, Sauze N, Filippi P, *et al.* Highly lytic and persistent lentiviruses naturally present in sheep with progressive pneumonia are genetically distinct. *J. Virol*. 1984; 52(2):672-679.
- Ravazzolo AP, Nenci C, Vogt H-R, Waldvogel A, *et al.* Viral load, organ distribution, histopathological lesions, and cytokine mRNA expression in goats infected with a molecular clone of the caprine arthritis encephalitis virus. *Virology*. 2006; 350(1):116-127.
- Reddy PG, Sapp WJ, Heneine W. Detection of caprine arthritis-encephalitis virus by polymerase chain reaction. *Journal of clinical microbiology*. 1993; 31(11):3042-3.
- Reina R, Barbezange C, Niesalla H, de Andrés X, *et al.* Mucosal immunization against ovine lentivirus using PEI-DNA complexes and modified vaccinia Ankara encoding the gag and/or env genes. *Vaccine*. 2008a; 26(35):4494-4505.
- Reina R, Berriatua E, Luján L, Juste R, *et al.* Prevention strategies against small ruminant lentiviruses: An update. *The Veterinary Journal*. 2008b;doi:10.1016/j.tvjl.2008.05.008.
- Reina R, Mora MI, Glaria I, García I, *et al.* Molecular characterization and phylogenetic study of Maedi Visna and Caprine Arthritis Encephalitis viral sequences in sheep and goats from Spain. *Virus Research*. 2006;121(2):189-198.
- Rimstad E, East N, DeRock E, Higgins J. Detection of antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus using recombinant gag proteins. *Archives of virology*. 1994;134(3/4):345.
- Rimstad E, East NE, Torten M, Higgins J, *et al.* Delayed seroconversion following naturally acquired caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats. *American journal of veterinary research*. 1993; 54(11):1858-62.
- Roberson SM, McGuire TC, Klevjer-Anderson P, Gorham JR, *et al.* Caprine Arthritis-Encephalitis Virus Is Distinct from Visna and Progressive Pneumonia Viruses as Measured by Genome Sequence Homology. *J. Virol*. 1982; 44(2):755-758.
- Rodriguez JM. Detection of animal pathogens by using the polymerase chain reaction (PCR). *The Veterinary Journal*. 1997; 153(3):287-305.
- Rogan WJ, Gladen B. Estimating prevalence from the results of a screening test. *American Journal of Epidemiology*. 1978;107(1):71-76.
- Rolland M, Mooney J, Valas S, Perrin G, *et al.* Characterisation of an Irish caprine lentivirus strain--SRLV phylogeny revisited. *Virus Research*. 2002;85(1):29-39.
- Rosati S, Mannelli A, Merlo T, Ponti N. Characterization of the immunodominant cross-reacting epitope of visna maedi virus and caprine arthritis-encephalitis virus capsid antigen. *Virus Research*. 1999; 61(2):177-183.
- Rosati S, Pittau M, Tolari F, Erre G, *et al.* Genetic and antigenic characterization of caev (caprine arthritis-encephalitis virus) recombinant transmembrane protein. *Veterinary Microbiology*. 1995;45(4):363-370.
- Rowe JD, East NE. Risk factors for transmission and methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*. 1997; 13(1):35-53.
- Rowe JD, East NE, Thurmond MC, Franti CE. Cohort study of natural transmission and two methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats on a California dairy. *American journal of veterinary research*. 1992; 53(12):2386.

- Ruff G, Lazary S. Evidence for linkage between the caprine leucocyte antigen (CLA) system and susceptibility to CAE virus-induced arthritis in goats. *Immunogenetics*. 1988; 28(5):303-9.
- Ruff G, Regli JG, Lazary S. Occurrence of caprine leucocyte class I and II antigens in Saanen goats affected by caprine arthritis (CAE). *European journal of immunogenetics : official journal of the British Society for Histocompatibility and Immunogenetics*. 1993; 20(4):285-8.
- Russo P, Vitu C, Fontaine JJ, Vignoni M. Arthrite-encéphalite caprine: essai d'une preparation vaccinale adjuvée--I. Etude clinique et virologique. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 1993; 16(2):131-6.
- Ryan DP, Greenwood PL, Nicholls PJ. Effect of caprine arthritis-encephalitis virus infection on milk cell count and N-acetyl-beta-glucosaminidase activity in dairy goats. *The Journal of dairy research*. 1993; 60(3):299-306.
- Ryan S, Tiley L, McConnell I, Blacklaws B. Infection of Dendritic Cells by the Maedi-Visna Lentivirus. *J. Virol*. 2000; 74(21):10096-10103.
- Saman E, Van Eynde G, Lujan L, Extramiana B, *et al*. A new sensitive serological assay for detection of lentivirus infections in small ruminants. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 1999; 6(5):734-40.
- Sánchez A, Contreras A, Corrales JC, Marco JC. Relationships between infection with caprine arthritis encephalitis virus, intramammary bacterial infection and somatic cell counts in dairy goats. *The Veterinary record*. 2001; 148(23):711-4.
- Sanna E, Sanna MP, Vitali CG, Renzoni G, *et al*. Proviral DNA in the Brains of Goats Infected with Caprine Arthritis-encephalitis Virus. *Journal of Comparative Pathology*. 1999;121(3):271-276.
- Schoborg RV. Analysis of caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) temporal gene expression in infected cells. *Virus research: an international journal of molecular and cellular virology*. 2002; 90(1):37.
- Schoborg RV, Clements JE. Definition of the RRE Binding and Activation Domains of the Caprine Arthritis Encephalitis Virus Rev Protein. *Virology*. 1996; 226(1):113-121.
- Sepp T, Tong-Starksen SE. STAT1 pathway is involved in activation of caprine arthritis- encephalitis virus long terminal repeat in monocytes. *J. Virol*. 1997; 71(1):771-777.
- Seroude V, Audoly G, Gluschankof P, Suzan M. Tryptophan 95, an amino acid residue of the Caprine arthritis encephalitis virus vif protein which is essential for virus replication. *Virology*. 2001; 280(2):232-42.
- Seroude V, Audoly G, Gluschankof P, Suzan M. Viral and Cellular Specificities of Caprine Arthritis Encephalitis Virus Vif Protein. *Virology*. 2002; 292(1):156-161.
- Shah C, Böni J, Huder JB, Vogt H-R, *et al*. Phylogenetic analysis and reclassification of caprine and ovine lentiviruses based on 104 new isolates: evidence for regular sheep-to-goat transmission and worldwide propagation through livestock trade. *Virology*. 2004a; 319(1):12-26.
- Shah C, Huder JB, Boni J, Schonmann M, *et al*. Direct Evidence for Natural Transmission of Small-Ruminant Lentiviruses of Subtype A4 from Goats to Sheep and Vice Versa. *J. Virol*. 2004b; 78(14):7518-7522.
- Sharmila C, Williams JW, Reddy PG. Effect of caprine arthritis-encephalitis virus infection on expression of interleukin-16 in goats. *American journal of veterinary research*. 2002; 63(10):1418-22.
- Sherman L, Yaniv A, Lichtman-Pleban H, Tronick SR, *et al*. Analysis of regulatory elements of the equine infectious anemia virus and caprine arthritis-encephalitis virus long terminal repeats. *J. Virol*. 1989; 63(11):4925-4931.
- Sihvonen L, Hirvelä-Koski V, Nuotio L, Kokkonen UM. Serological survey and epidemiological investigation of maedi-visna in sheep in Finland. *Veterinary Microbiology*. 1999;65(4):265-270.
- Sihvonen L, Nuotio L, Rikula U, Hirvelä-Koski V, *et al*. Preventing the spread of maedi-visna in sheep through a voluntary control programme in Finland. *Preventive Veterinary Medicine*. 2000; 47(3):213-220.
- Silva JS, Castro RS, Melo CB, Feijó FMC. Infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina no Rio Grande do Norte. *Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia*. 2005; 57(6):726-731.
- Simard C. Contrôle de l'arthrite encéphalitecaprine: une approche rentable. VII Colloque sur la Chèvre 2002. Drummondville. 2002

- Simard C, Kibenge MT, Singh P, Dixon P. Simple and rapid method for production of whole-virus antigen for serodiagnosis of caprine arthritis-encephalitis virus by enzyme-linked immunosorbent assay. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 2001; 8(2):352-6.
- Sims LD, Hale CJ, McCormick BM. Progressive interstitial pneumonia in goats. *Australian veterinary journal*. 1983; 60(12):368-71.
- Singh DK, Chebloune Y, Mselli-Lakhal L, Karr BM, *et al*. Ovine lentivirus-infected macrophages mediate productive infection in cell types that are not susceptible to infection with cell-free virus. *J Gen Virol*. 1999; 80(6):1437-1444.
- Smith MC, Cutlip R. Effects of infection with caprine arthritis-encephalitis virus on milk production in goats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1988; 193(1):63-7.
- Snowder GD, Gates NL, Glimp HA, Gorham JR. Prevalence and effect of subclinical ovine progressive pneumonia virus infection on ewe wool and lamb production. *J Am Vet Med Assoc*. 1990;197(4): 475-9.
- Sobral M. Recursos Genéticos: Raças Autóctones Espécies Ovina e Caprina. Lisboa, 1987: 165-205.
- Storset AK, Evensen O, Rimstad E. Immunohistochemical identification of caprine arthritis-encephalitis virus in paraffin-embedded specimens from naturally infected goats. *Vet Pathol*. 1997; 34(3):180-188.
- Storset AK, Teig A, Rimstad E. Detection of caprine arthritis-encephalitis virus RNA in macrophages by in situ hybridization using fluorescein-labelled single-stranded RNA probes. *Veterinary Microbiology*. 1996;52(1-2):25-35.
- Straub OC. Maedi-Visna virus infection in sheep. History and present knowledge. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2004; 27(1):1-5.
- Tesoro-Cruz E, Hernández-González R, Kretschmer-Schmid R, Aguilar-Setién A. Cross-reactivity between caprine arthritis-encephalitis virus and type 1 human immunodeficiency virus. *Archives of Medical Research*. 2003; 34(5):362-366.
- Thibier M, Guerin B. Hygienic aspects of storage and use of semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science*. 2000; 62(1-3):233-251.
- Thrusfield MV. *Veterinary epidemiology*. Butterworths. London; Boston, 1986:
- Tobin GJ, Trujillo JD, Bushnell RV, Lin G, *et al*. Deceptive imprinting and immune refocusing in vaccine design. *Vaccine*. 2008; 26(49):6189-6199.
- Tong-Starksen SE, Sepp T, Pagtakhan AS. Activation of caprine arthritis-encephalitis virus long terminal repeat by gamma interferon. *J. Virol*. 1996; 70(1):595-599.
- Torres-Acosta JFJ, Gutierrez-Ruiz EJ, Butler V, Schmidt A, *et al*. Serological survey of caprine arthritis-encephalitis virus in 83 goat herds of Yucatan, Mexico. *Small Ruminant Research*. 2003; 49(2):207-211.
- Torsteinsdóttir S, Carlsdóttir HM, Svansson V, Matthíasdóttir S, *et al*. Vaccination of sheep with Maedi-visna virus gag gene and protein, beneficial or harmful? *Vaccine*. 2007; 25(37-38): 6713-6720.
- Travassos CE, Benoît C, Valas S, da Silva AG, *et al*. Caprine arthritis-encephalitis virus in semen of naturally infected bucks. *Small Ruminant Research*. 1999; 32(2):101-106.
- Trujillo JD, Hötzel KJ, Snekvik KR, Cheevers WP. Antibody response to the surface envelope of caprine arthritis-encephalitis lentivirus: disease status is predicted by SU antibody isotype. *Virology*. 2004a; 325(1):129-136.
- Trujillo JD, Kumpula-McWhirter NM, Hotzel KJ, Gonzalez M, *et al*. Glycosylation of Immunodominant Linear Epitopes in the Carboxy-Terminal Region of the Caprine Arthritis-Encephalitis Virus Surface Envelope Enhances Vaccine-Induced Type-Specific and Cross-Reactive Neutralizing Antibody Responses. *Journal of Virology*. 2004b; 78(17):9190-9202.
- Turelli P, Guiguen F, Mornex JF, Vigne R, *et al*. dUTPase-minus caprine arthritis-encephalitis virus is attenuated for pathogenesis and accumulates G-to-A substitutions. *J. Virol*. 1997; 71(6):4522-4530.
- Turelli P, Petursson G, Guiguen F, Mornex JF, *et al*. Replication properties of dUTPase-deficient mutants of caprine and ovine lentiviruses. *J. Virol*. 1996; 70(2):1213-1217.
- Turin L, Pisoni G, Giannino ML, Antonini M, *et al*. Correlation between milk parameters in CAEV seropositive and negative primiparous goats during an eradication program in Italian farm. *Small Ruminant Research*. 2005; 57(1):73-79.

- Valas S, Benoit C, Baudry C, Perrin G, *et al.* Variability and Immunogenicity of Caprine Arthritis-Encephalitis Virus Surface Glycoprotein. *Journal of Virology*. 2000; 74(13):6178-6185.
- van der Molen EJ, Houwers DJ. Indurative lymphocytic mastitis in sheep after experimental infection with maedivisna virus. *The Veterinary quarterly*. 1987; 9(3):193-202.
- van der Molen EJ, Vecht U, Houwers DJ. A chronic indurative mastitis in sheep, associated with maedi/visna virus infection. *The Veterinary quarterly*. 1985;7(2):112-9.
- Vander Schalie J, Bradway DS, Besser TE, Evermann JF. Evaluation of a kinetic enzyme-linked immunosorbent assay for detection of caprine arthritis-encephalitis virus-specific antibodies. *J Vet Diagn Invest*. 1994; 6(1):30-33.
- Villet S, Bouzar BA, Morin T, Verdier G, *et al.* Maedi-visna virus and caprine arthritis encephalitis virus genomes encode a Vpr-like but no Tat protein. *Journal of Virology*. 2003a; 77(17):9632-8.
- Villet St, Faure C, Bouzar BA, Morin T, *et al.* Lack of trans-activation function for Maedi Visna virus and Caprine arthritis encephalitis virus Tat proteins. *Virology*. 2003b; 307(2):317-327.
- Vitu C, Russo P, Vignoni M. Arthrite-encéphalite caprine: essai d'une preparation vaccinale adjuvée--II. Etude de la reponse anticorps. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 1993; 16(2):137-44.
- von Bodungen U, Lechner F, Pfister H, Vogt HR, *et al.* Immunohistology of the early course of lentivirus-induced arthritis. *Clinical and experimental immunology*. 1998; 111(2):384-90.
- Wagter LH, Jansen A, Bleumink-Pluym NM, Lenstra JA, *et al.* PCR detection of lentiviral GAG segment DNA in the white blood cells of sheep and goats. *Veterinary research communications*. 1998; 22(5):355-62.
- Washburn KE, Streeter RN, Saliki JT, Lehenbauer TW, *et al.* Photodynamic inactivation of an RNA enveloped virus in goat colostrum. *SMALL RUMINANT RESEARCH*. 2001; 42(1):31-37.
- Watt NJ, MacIntyre N, Collie D, Sargan D, *et al.* Phenotypic analysis of lymphocyte populations in the lungs and regional lymphoid tissue of sheep naturally infected with maedi visna virus. *Clin Exp Immunol*. 1992; 90(2):204-8.
- Welsh RM, Selin LK, Szomolanyi-Tsuda E. Immunological Memory to Viral Infections1. *Annual Review of Immunology*. 2004; 22(1):711-743.
- Wilkerson MJ, Davis WC, Baszler TV, Cheevers WP. Immunopathology of chronic lentivirus-induced arthritis. *The American journal of pathology*. 1995; 146(6):1433-43.
- Yamamoto JK, Hohdatsu T, Olmsted RA, Pu R, *et al.* Experimental vaccine protection against homologous and heterologous strains of feline immunodeficiency virus. *J. Virol*. 1993; 67(1):601-605.
- Zanoni R, Pauli U, Peterhans E. Detection of caprine arthritis-encephalitis- and maedi-visna viruses using the polymerase chain reaction. *Experientia*. 1990; 46(3):316-9.
- Zanoni RG. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses. *J Gen Virol*. 1998; 79(8):1951-1961.
- Zanoni RG, Nauta IM, Kuhnert P, Pauli U, *et al.* Genomic heterogeneity of small ruminant lentiviruses detected by PCR. *Veterinary Microbiology*. 1992; 33(1-4):1-4.
- Zhang Z, Guo J, Ni Y, Bazer FW, *et al.* Construction and characterization of a recombinant ovine lentivirus carrying the optimized green fluorescent protein gene at the dUTPase locus. *Archives of virology*. 2003; 148(8):1485-506.
- Zhang Z, Watt NJ, Hopkins J, Harkiss G, *et al.* Quantitative analysis of maedi-visna virus DNA load in peripheral blood monocytes and alveolar macrophages. *Journal of virological methods*. 2000; 86(1):13.
- Zink MC, Narayan O. Host-virus interaction in caprine arthritis-encephalitis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1988; 540:634-5.
- Zink MC, Narayan O. Lentivirus-induced interferon inhibits maturation and proliferation of monocytes and restricts the replication of caprine arthritis-encephalitis virus. *Journal of Virology*. 1989; 63(6):2578-84.
- Zink MC, Narayan O, Kennedy PGE, Clements JE. Pathogenesis of visna/maedi and caprine arthritis-encephalitis: New leads on the mechanism of restricted virus replication and persistent inflammation. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1987; 15(1-2):167-180.
- Zink MC, Yager JA, Myers JD. Pathogenesis of caprine arthritis encephalitis virus. Cellular localization of viral transcripts in tissues of infected goats. *The American journal of pathology*. 1990; 136(4):843-54.

5. ANEXOS

ANEXO I

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Inquérito epidemiológico sobre artrite-encefalite dos caprinos

Nº inquérito

Marca de exploração : _____

Data: ____/____/____

Localidade _____ Concelho _____

Nome proprietário: _____

1. A exploração é a única ocupação? Sim Não Proprietário? Sim Não

2. Tipo de exploração:

Intensiva (estabulação permanente)

Semi-extensiva (estabulação + pastoreio)

Extensiva (pastoreio quase exclusivo)

3. Tamanho do Efectivo:

Raça: Serrana Bravia Misto outra. Qual? _____

Cabritos < 1 ano: _____

Caprinos > 1 ano: Machos _____, Fêmeas _____

Ovinos _____

Nº médio de cabritos nascidos por ano _____

4. Já ouviu falar de artrite e encefalite dos caprinos (CAEV)?

Sim Não Como teve conhecimento? _____

5. Teve no último ano animais com:

Mamite Sim Não Falar em "curto"

Dificuldade respiratória Sim Não Falar em "bater os folos"

Artrite (inchaço nos joelhos) Sim Não Falar em "juntas inchadas"

5.1. Morreu ou refugou algum animal com este problema ? Sim Não

Se sim quantos? Mamite: _____ Dificuldades respiratórias: _____ Artrites: _____

6. No último ano morreram-lhe muitos cabritos? Sim Não Nº aproximado_____
- 6.1. Quantos morreram com sintomas nervosos? _____ (falar em "maluqueira")
7. Vacina contra a agaláxia contagiosa? Sim Não Frequência de vacinação_____
8. Costuma introduzir animais na exploração? (comprados ou emprestados)
- Sim Não Quantos no último ano? _____
9. Quantas cabritas criou no ano passado? _____
10. Costuma usar bodes de outros rebanhos? Sim Não
11. Costuma assistir e ajudar nos partos ? Sim Não
12. Faz a ordenha ? Sim Não
- Se sim esta é: Manual Mecânica
13. Os cabritos mamam directamente nas mães? Sim Não
14. Alimentação com colostro ou leite de outras cabras? Sim Não
- Se sim, o leite/colostro é tratado termicamente? Sim Não
15. Tem colostro guardado no congelador (banco de colostro)?
- Sim Não Quantidade de colostro?_____
16. Quais são as doenças que mais o preocupam na sua exploração?
- _____
- _____
- _____

Dados finais (a observar pelo inquiridor)

1. Estado geral dos animais: Muito mau Mau Suficiente Bom Muito bom (opinião pessoal)
2. Estado geral das instalações: Muito mau Mau Suficiente Bom Muito bom (opinião pessoal)
3. Existência de:
- 3.1. Maternidade: Sim Não
- 3.2. Enfermaria /Local para quarentena: Sim Não
- 3.3. Água canalizada: Sim Não
- 3.4. Electricidade: Sim Não

Muito Obrigada pela sua colaboração!

ANEXO II

Tabela 13. Análise de resultados do inquérito epidemiológico.

	Bravia	%	Serrana a)	%	Serrana b)	%	Serrana	%	Total	%	Inquéritos validados
Exploração é única ocupação											
Sim	10	100	10	62,5	7	41,2	17	100,0	27	38,6	43,0
Não	0	0	6	37,5	10	58,8	0	0,0	43	61,4	
Total	10	100	16	100	17	100	17	100	70	100	43
Proprietário?											
Sim	9	90	13	86,7	16	94,1	29	90,6	38	90,5	42,0
Não	1	10	2	13,3	1	5,9	3	9,4	4	9,5	
Total	10	100	15	100	17	100	32	100	42	100	42
Tipo de exploração											
Intensiva	0	0	1	5,9	0	0,0	1	2,9	1	2,3	44,0
Semi-extensiva	8	80	3	17,6	3	17,6	6	17,6	14	31,8	
Extensiva	2	20	13	76,5	14	82,4	27	79,4	29	65,9	
Total	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100	
Tamanho do efectivo											
<50	0	0	0	0	2	14,3	2	5,9	2	4,5	44
[50-100[	0	0	9	52,9	12	70,6	21	61,8	21	47,7	
[100-150[	8	80	4	23,5	1	5,8	5	14,7	13	29,5	
[150-200[	1	10	4	23,5	1	5,8	5	14,7	6	13,6	
≥200	1	10	0	0	1	5,8	1	2,9	2	4,5	
Total	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100	
Conhecimento da doença											
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	44
	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100	
Sinais											
Mamite											
Sim	6	60	10	58,8	11	64,7	21	61,8	27	61,4	
Não	4	40	7	41,2	6	35,3	13	38,2	17	38,6	
Total	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100	0
Sinais respiratórios											
Sim	10	100	8	47,1	7	41,2	15	44,1	25	56,8	
Não	0	0	9	52,9	10	58,8	19	55,9	19	43,2	
Total	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100	0
Artrite											
Sim	8	80	10	58,8	8	47,1	18	52,9	26	59,1	44
Não	2	20	7	41,2	9	52,9	16	47,1	18	40,9	
Total	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100	0
Refugo											
Sim	5	50	4	26,7	9	52,9	13	40,6	18	42,9	
Não	5	50	11	73,3	8	47,1	19	59,4	24	57,1	
Total	10	100	15	100	17	100	32	100	42	100	
Morte cabritos											
Sim	10	100	5	31,3	12	70,6	17	51,5	27	62,8	
Não	0	0	11	68,8	5	29,4	16	48,5	16	37,2	
Total	10	100	16	100	17	100	33		43	100	
Taxa> 5% *	10	100	7	46,7	13	92,9	20	69,0	30	76,9	39
Taxa> 10%*	10	100	6	40,0	10	71,4	16	55,2	26	66,7	
Total	10		15		14		29		39		
Sinais nervosos	5	50	2	15,4	3	27,7	5	20,8	10	33,3	30
Total	10		13		11		24		30		
Vacina contra a Agaláxia contagiosa											
Sim	5	50	15	88,2	17	100,0	32	94,1	37	84,1	44

Não	5	50	2	11,8	0	0,0	2	5,9	7	15,9	
Total	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100	
1xano	4	80	4	26,7	8	47,1	12	37,5	16	43,2	37
2xano	1	20	10	66,7	8	47,1	18	56,3	19	51,4	
3xano	0	0	1	6,7	1	5,9	2	6,3	2	5,4	
Total	5	100	15	100	17	100	32	100	37	100	
Animais novos											44
Sim	2	20	2	11,8	5	29,4	7	20,6	9	20,5	
Não	8	80	15	88,2	12	70,6	27	79,4	35	79,5	
Total	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100	0
Cabritas criadas Tx>20%**	1	10	5	31,3	10	58,8	15	45,5	16	37,2	43,0
Total	10		16		17		33		43		
Bodes de outros rebanhos											
Sim	0	0	0	0,0	3	17,6	3	8,8	3	6,8	44
Não	10	100	17	100,0	14	82,4	31	91,2	41	93,2	
Total	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100	
Ajuda nos partos											
Sim	5	50	16	94,1	16	94,1	32	94,1	37	84,1	44
Não	5	50	1	5,9	1	5,9	2	5,9	7	15,9	
Total	10	100	17	100	17	100	34	100	44	100	0
Ordenha											
Sim	0		16	94,1	17	100,0	33	97,1	33	75,0	44
Não	10		1	5,9	0	0,0	1	2,9	11	25,0	
Total	10	0	17	100,0	17	100,0	34	100,0	44	100,0	
Manual	/	/	15	93,8	17	100,0	32	97,0	32	97,0	33
Mecânica	/	/	1	6,3	0	0,0	1	3,0	1	3,0	
			16	100	17	100	33	100	33	100	
Cabritos mamam nas mães											
Sim	10	100	17	100,0	15	88,2	31	93,9	42	95,5	44
Não	0	0	0	0,0	2	11,8	2	6,1	2	4,5	
Total	10	100	17	100	17	100	33	100	44	100	0
Leite de outras cabras											
Sim	10	100	14	87,5	8	50,0	22	68,8	32	76,2	42
Não	0	0	2	12,5	8	50,0	10	31,3	10	23,8	
Total	10	100	16	100	16	100	32	100	42	100	0
Tratamento térmico	0	0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	32
Total	10		14		8		22		32		
Colostro guardado	0	0	0	0,0	1	6,3	1	3,0	1	2,4	42
	10	100	16	100,0	15	93,8	32	97,0	41	97,6	
Total	10	100	16	100	16	100	33	100	42	100	
Dados observados											
Estado animais											
Muito mau	1	10	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,3	43
Mau	0	0	1	6,3	0	0,0	1	3,0	1	2,3	
Suficiente	4	40	7	43,8	9	52,9	16	48,5	20	46,5	
Bom	5	50	8	50,0	8	47,1	16	48,5	21	48,8	
Muito bom	0	0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
Total	10	100	16	100	17	100	33	100	43	100	
Estado instalações											
Muito mau	0	0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	43
Mau	2	20	1	6,3	1	5,9	2	6,1	4	9,3	
Suficiente	5	50	5	31,3	13	76,5	18	54,5	23	53,5	
Bom	3	30	9	56,3	3	17,6	12	36,4	15	34,9	
Muito bom	0	0	1	6,3	0	0,0	1	3,0	1	2,3	
Total	10	100	16	100	17	100	33	100	43	100	0

Maternidade											
Sim	1	10	3	18,8	2	11,8	5	15,2	6	14,0	43
Não	9	90	13	81,3	15	88,2	28	84,8	37	86,0	
Total	10	100	16	100	17	100	33	100	43	100	
Enfermaria /quarentena											
Sim	1	10	2	12,5	0	0,0	2	6,1	3	7,0	43
Não	9	90	14	87,5	17	100,0	31	93,9	40	93,0	
Total	10	100	16	100	17	100	33	100	43	100	
Água canalizada											
Sim	1	10	12	75,0	4	23,5	16	48,5	17	39,5	43
Não	9	90	4	25,0	13	76,5	17	51,5	26	60,5	
Total	10	100	16	100	17	100	33	100	43	100	
Electricidade											
Sim	6	60	9	56,3	4	23,5	13	39,4	19	44,2	43
Não	4	40	7	43,8	13	76,5	20	60,6	24	55,8	
Total	10	100	16	100	17	100	33	100	43	100	0

a) Explorações caprinos raça Serrana onde foi realizada colheita e aplicado o inquérito epidemiológico.

b) Explorações caprinos raça Serrana onde apenas foi aplicado o inquérito epidemiológico.

* Taxa mortalidade= nº cabritos mortos/nº médio de cabritos por ano

** Taxa substituição= nº cabritas criadas/nº fêmeas na exploração

ANEXO III

Tabela 14. Distribuição geográfica das explorações

Exploração	Raça	Localidade	Concelho
B1	Bravia	Minas de Adoria	Ribeira de Pena
B2	Bravia	Seirrãos	Boticas
B3	Bravia	Assureira	Mondim de basto
B4	Bravia	Formigueiro	Cabeceiras de Basto
B5	Bravia	Azeveda	Ribeira de Pena
B6	Bravia	Cabanes	Vila Pouca de Aguiar
B7	Bravia	Macieira - Limões	Ribeira de Pena
B8	Bravia	Sta Eulália	Ribeira de Pena
B9	Bravia	Cerdedo	Boticas
B10	Bravia	Tendreira	Vila pouca de Aguiar
S1	Serrana	Roios	Vila Flor
S2	Serrana	Ferradosa	Alfândega da Fé
S3	Serrana	Toubres	Murça
S4	Serrana	Vale de campo	Valpaços
S5	Serrana	Candoso	Vila Flor
S6	Serrana	Ribeirinha	Vila Flor
S7	Serrana	Zebas	Valpaços
S8	Serrana	Ribalonga	Alijó
S9	Serrana	Carlão	Alijó
S10	Serrana	Valverde Gestosa	Mirandela
S11	Serrana	Matela	Vimioso
S12	Serrana	Quinta Lanpaças	Bragança
S13	Serrana	Gebelim	Alfândega da Fé
S14	Serrana	Malta	Macedo de Cavaleiros
S15	Serrana	Vilariça	Mogadouro
S16	Serrana	Morais	Macedo de Cavaleiros
S17	Serrana	Vila Real	Vila Real
I1	Serrana	Vinhós	Macedo de Cavaleiros
I2	Serrana	Azinhoso	Mogadouro
I 3	Serrana	Carvalhais	Mirandela
I 4	Serrana	Vila Nova	Armamar
I 5	Serrana	Vale Padrinhos	Macedo de Cavaleiros
I 6	Serrana	Limãos	Macedo de Cavaleiros
I 7	Serrana	Gebelim	Alfândega da Fé
I 8	Serrana	Lagoa	Macedo de Cavaleiros
I 9	Serrana	Morais	Macedo de Cavaleiros
I 10	Serrana	Sendim-Serva	Alfândega da Fé
I 11	Serrana	Passos	Mirandela
I12	Serrana	Morais	Macedo de Cavaleiros
I 13	Serrana	Valverde da Gestosa	Mirandela
I 14	Serrana	Passos	Mirandela
I 15	Serrana	Limãos	Macedo de Cavaleiros
I 16	Serrana	Ribalonga	Alijó
I 17	Serrana	Morais	Macedo de Cavaleiros

B – Rebanhos raça Bravia

S – Rebanhos raça Serrana onde foi aplicado o inquérito epidemiológico e feita a recolha de amostras

I – Rebanhos raça Serrana onde foi apenas aplicado o inquérito epidemiológico

ANEXO IV

Tabela 15. Caracterização dos efectivos quanto à constituição e taxa de fertilidade

Exploração	Nº Cabritos	Nº Machos	Nº Fêmeas	Nº Adultos	Nº médio de cabritos /ano	Taxa fertilidade*
B1	12	7	300	307	200	0,67
B2	50	4	118	122	140	1,19
B3	50	4	126	130	80	0,63
B4	70	5	120	125	200	1,67
B5	20	5	125	130	130	1,04
B6	40	3	100	103	100	1
B7	45	7	130	137	120	0,92
B8	50	3	144	147	140	0,97
B9	22	4	143	147	120	0,84
B10	24	5	150	155	100	0,67
S1	0	4	75	79	110	1,47
S2	17	4	66	70	80	1,21
S3	39	8	123	131	150	1,22
S4	35	7	170	177	170	1
S5	0	4	60	64	90	1,5
S6	39	4	121	125	197	1,63
S7	0	3	78	81	90	1,15
S8	20	8	155	163	-	-
S9	12	2	50	52	-	-
S10	42	6	170	176	240	1,41
S11	0	4	120	124	160	1,33
S12	0	6	147	153	180	1,22
S13	32	4	83	87	110	1,33
S14	19	4	57	61	100	1,75
S15	0	3	114	117	116	1,02
S16	20	4	84	88	150	1,79
S17	10	3	63	66	80	1,27
I1	15	2	64	66	70	1,09
I2	30	1	90	91	120	1,33
I3	25	4	90	94	120	1,33
I4	30	2	32	34	40	1,25
I5	16	2	45	47	60	1,33
I6	28	6	74	80	93	1,26
I7	10	3	70	73	80	1,14
I8	10	2	65	67	50	0,77
I9	17	4	70	74	120	1,71
I10	20	3	65	68	-	-
I11	8	4	64	68	80	1,25
I12	20	4	65	69	90	1,38
I13	46	5	145	150	250	1,72
I14	29	5	200	205	200	1
I15	50	4	128	132	-	-
I16	20	3	77	80	60	0,78
I17	30	3	95	98	130	1,37

* Taxa de fertilidade (aproximada)= nº médio de cabritos por ano/ nº de fêmeas

ANEXO V

Tabela 16. Análise estatística.

Factor	Categoria	N	CAEV cELISA		p^a
			Nº positivos	Nº negativos	
Idade	< 2 anos	350	2	21	< 0,05
	> 2 anos		118	232	
Tipo de exploração	Semi-extensiva	26	11	4	> 0,05
	Extensiva		5	6	
Raça	Sim	27	2	8	< 0,05
	Não		14	3	
Tamanho da exploração	<100	27	3	6	> 0,05
	≥100		8	10	
Presença de ovinos	Sim	27	5	1	> 0,05
	Não		11	10	
Mamites	Sim	27	6	6	> 0,05
	Não		10	5	
Dificuldades respiratórias	Sim	27	9	9	> 0,05
	Não		7	2	
Artrites	Sim	27	9	9	> 0,05
	Não		7	2	
Refugo	Sim	25	6	3	> 0,05
	Não		9	8	
Morte de cabritos>5%	Sim	23	9	9	> 0,05
	Não		4	1	
Morte de cabritos>10%	Sim	23	7	9	> 0,05
	Não		6	1	
Sintomas nervosos	Sim	19	2	5	> 0,05
	Não		10	2	
Vacina contra a Agaláxia contagiosa	Sim	20	3	7	> 0,05
	Não		13	4	
Animais introduzidos na exploração	Sim	27	1	2	> 0,05
	Não		14	9	
Cabritas criadas Tx>20%	Sim	27	4	2	> 0,05
	Não		12	9	
Ordenha	Sim	27	14	2	< 0,05
	Não		2	9	

^a – Nível de probabilidade estatisticamente significativo $p < 0,05$