



# ESTUDO COMPARATIVO DA SENSIBILIDADE E DA ESPECIFICIDADE DE ELISA INDIRETO COM O TESTE DE IMUNODIFUSÃO EM GEL DE AGAROSE NO DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA (CAEV)

*Comparative study about sensitivity and specificity of indirect elisa to test immunodiffusion in agarose gel for the sorologic diagnosis of arthritis-encephalitis in goat (Caev)*

**Rodrigo Bonfim Cruz<sup>[a]</sup>, Vitor Borges Putini<sup>[b]</sup>, Gabriela dos Santos Santana<sup>[c]</sup>,  
Jaqueline Santos Jorge<sup>[d]</sup>, Iuri Coelho<sup>[e]</sup>, Diógenis Lima da Silva<sup>[f]</sup>, Farouk Zacharias<sup>[g]</sup>,  
Dellane Tigre<sup>[h]</sup>, Robson Bahia Cerqueira<sup>[i]</sup>**

- <sup>[a]</sup> Discente do Curso de Medicina Veterinária da União Metropolitana de Educação e Cultura (UNIME), Lauro de Freitas, BA - Brasil, e-mail: robsonba@gmail.com
- <sup>[b]</sup> Discente do Curso de Medicina Veterinária da União Metropolitana de Educação e Cultura (UNIME), Lauro de Freitas, BA - Brasil, e-mail: robsonba@gmail.com
- <sup>[c]</sup> Discente do Curso de Medicina Veterinária da União Metropolitana de Educação e Cultura (UNIME), Lauro de Freitas, BA - Brasil, e-mail: robsonba@gmail.com
- <sup>[d]</sup> Discente do Curso de Medicina Veterinária da União Metropolitana de Educação e Cultura (UNIME), Lauro de Freitas, BA - Brasil, e-mail: robsonba@gmail.com
- <sup>[e]</sup> Médico Veterinário, Mestrando em Ciência Animal nos Trópicos na União Metropolitana de Educação e Cultura (UNIME), Lauro de Freitas, BA - Brasil, e-mail: robsonba@gmail.com
- <sup>[f]</sup> Auxiliar de Saúde do Laboratório de Doenças Infecciosas da União Metropolitana de Educação e Cultura (UNIME/LADI), Salvador, BA - Brasil, e-mail: diogenisls@hotmail.com
- <sup>[g]</sup> Médico Veterinário e pesquisador da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola, Mestre, professor de Caprinovincultura na União Metropolitana de Educação e Cultura (UNIME), Lauro de Freitas, BA - Brasil, e-mail: robsonba@gmail.com
- <sup>[h]</sup> Médica Veterinária, Mestre em Imunologia, professora de Microbiologia da União Metropolitana de Educação e Cultura (UNIME), Lauro de Freitas, BA - Brasil, e-mail: robsonba@gmail.com
- <sup>[i]</sup> Médico Veterinário, professor orientador e responsável pelo Laboratório de Doenças Infecciosas, Mestre e Doutorando em Imunologia na União Metropolitana de Educação e Cultura (UNIME), Lauro de Freitas, BA - Brasil, e-mail: robsonba@gmail.com

## Resumo

A artrite-encefalite caprina é uma doença infecciosa causada por um vírus do gênero *Lentivirus* que resulta em manifestações clínicas de artrite, encefalomyelite, broncopneumonia e mastite. As formas convencionais de diagnóstico são por meio da clínica e sorologia utilizando as técnicas de imunodifusão em gel de agarose (IDGA) e ensaio imunoenzimático (ELISA). Este trabalho teve como objetivo padronizar um teste ELISA indireto utilizando antígeno (Ag) comercial e comparar o Kit-IDGA comercial determinando a sua sensibilidade e especificidade. Foram utilizadas 79 amostras, sendo 33 de animais com sintomatologia clínica da CAEV e 46 de animais sem sintomas. Na padronização do ELISA indireto foi determinado o ponto de corte para verificar os animais soropositivos, sendo este 0,385. O ELISA indireto determinou 31/33 soros reagentes (com sinais clínicos) e nenhum reagente (46 sem sinais clínicos) enquanto o IDGA identificou 11/24 animais reagentes (com sintomas) e 1/15 reagente (sem sintomas). A sensibilidade e especificidade do ELISA indireto foi de 93,93% e 100%, respectivamente, enquanto do IDGA foi de 45,83% e 93,33%, respectivamente. A concordância entre os dois testes foi 97,43%.

**Palavras-chave:** Artrite-encefalite viral caprina. Diagnóstico. ELISA indireto. IDGA.

## Abstract

*The caprine arthritis encephalitis is a disease caused by a virus of the genus Lentivirus that results in clinical signs of arthritis, encephalomyelitis, bronchopneumonia and mastitis. The conventional forms of diagnosis is through the clinical and serology using the techniques of immuno-agarose gel (AGID) and immunosorbent assay (ELISA). This study aimed to standardize an indirect ELISA using a trade antigen and compare the commercial Kit-AGID determining its sensitivity and specificity. A total of 79 samples were used, bring 33 animals with clinical symptoms of CAEV and 46 animals without symptoms. In the standardization of indirect ELISA the cut-off point established was 0,385 for evaluating the animals being HIV positive. The indirect ELISA determined 31/33 reagents sera (with clinical signs) and no reagent (46 without clinical signs) while the AGID found 11/24 reagent animals (with symptoms) and 1 / 15 reagent (without symptoms). The sensitivity and specificity of indirect ELISA was 93.93% and 100% respectively, while the AGID was 45.83% and 93.33% respectively. The agreement between the two tests was 97.43%.*

**Keywords:** Goats arthritis-viral encephalitis. Diagnosis. Indirect ELISA. AGID.

---

## INTRODUÇÃO

A exploração dos caprinos no Nordeste está mais relacionada com a subsistência, com baixa adoção de tecnologia e pouco incremento da renda, enquanto nos criatórios das regiões Sul e Sudeste são mais tecnificados. O baixo índice de utilização das práticas de manejo sanitário por parte dos criatórios caprinos contribui, sem dúvida, para a manutenção dos altos níveis de mortalidade e morbidade observados em rebanhos caprinos (PINHEIRO; GOUVEIA; ALVES, 2001). A falta de áreas de isolamento e quarentenário nas fazendas e o trânsito entre rebanhos e entre regiões podem ser considerados como os principais responsáveis pela disseminação de doenças (PINHEIRO et al., 2000). Dentre as enfermidades de caprinos com maior disseminação pela falta de manejo adequado destaca-se a artrite-encefalite dos caprinos a vírus (CAEV). Trata-se de uma doença infecciosa, multissistêmica, provocada por vírus pertencente ao gênero *Lentivirus*, que infecta caprinos em várias fases do desenvolvimento etário, independente do sexo, raça e produção (LARA; BIRGEL JUNIOR;

BIRGEL, 2005). Os lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR) têm sido notificados em diversos países, com prevalências mais elevadas nos que apresentam ovino-caprinocultura mais tecnificada. No Brasil, além de descrições clínicas e anatomopatológicas, a ocorrência de animais soropositivos tem sido registrada em vários Estados: Rio Grande do Sul, Bahia, São Paulo, Pernambuco, Ceará, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Maranhão e Pará (CALLADO; CASTRO; TEIXEIRA, 2001). A forma clínica articular da CAEV, é caracterizada principalmente pelo aumento de volume da articulação, além de outros distúrbios do sistema locomotor, como claudicação e adoção de posições anômalas. A forma clínica mamária desta enfermidade é caracterizada pela presença de nódulos e endurecimento difuso no parênquima da glândula mamária e diminuição da produção de leite (CASTRO; MELO, 2001). Castro (1998) relata que por causa das características de infecção persistente por LVPR, a sorologia representa uma forma eficaz de diagnóstico laboratorial, pois a presença de anticorpos demonstra, indiretamente, a existência de infecção. Por outro lado, o diagnóstico direto da infecção, pelo isolamento e identificação do agente, não é rotineiramente empregado por ser demorado e bastante dispendioso. De acordo com Lara et al. (2005) a técnica de imunodifusão em gel de agarose (IDGA) é de fácil execução, bastante específica, sendo a prova recomendada para diagnóstico sorológico, apesar de ser menos sensível que as técnicas de ensaio imunoenzimático (ELISA) e reação em cadeia polimerase (PCR). Por ser uma enfermidade que se apresenta disseminada por todo o país, as medidas preventivas e a execução dos programas de controle visam à prevenção da transmissão pelo leite, isolamento dos animais soropositivos e monitoramento sorológico do rebanho (EAST, 1993). O presente trabalho teve como objetivo o estudo comparativo da sensibilidade e especificidade de um ELISA indireto e o teste de imunodifusão para o diagnóstico sorológico da CAEV.

## **MATERIAL E MÉTODO**

### **Amostras**

Foram utilizados 33 animais com histórico clínico para CAEV e 46 animais sem histórico clínico, provenientes de microrregiões como Lauro de Freitas e Senhor do Bonfim, no Estado da Bahia. Os caprinos utilizados não apresentavam um padrão racial específico, sendo tanto animais mestiços, como também animais de puro sangue da raça saanen. Quanto à idade, deu-se preferência por animais com faixa etária acima de 12 meses e de ambos os sexos. Na escolha dos trinta e três animais com sintomatologia clínica, provenientes do município de Senhor do Bonfim, tomou-se como parâmetros alguns sinais clínicos citados como mais frequentes para a enfermidade. Estes sinais clínicos referem-se ao aumento de volume das articulações antebraquicarpianas associado à sensibilidade aumentada da região, presença de edema e claudicação, além de perda de peso e diminuição da produtividade, seja ela para produção de leite ou carne. A escolha dos quarenta e seis animais sem sintomatologia clínica, oriundos da região de Lauro de Freitas, foi realizada de forma aleatória no rebanho, observando animais com parâmetros fisiológicos normais, ou seja, com aspecto saudável e que não apresentavam sinais clínicos citados no tópico anterior.

### **Ensaio imunoenzimático (ELISA indireto)**

O teste ELISA indireto descrito neste projeto utilizou como base o protocolo baseado em Torres (2005), onde a placa de poliestireno com 96 poços foi sensibilizada com o antígeno viral padronizado pelo kit-CAEV comercial diluído em 1:50 em tampão carbonato-bicarbonato, e incubada por 16 horas a 4°C. Essa diluição foi determinada após padronização com diluições diferenciadas como antígeno (Ag) puro, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400. Passado esse período, os poços foram lavados por duas vezes com uma solução de Phosphate Buffer Solution -T-20. Posteriormente, foi adicionada uma solução de PBS-T com leite desnatado a 5% para fazer o bloqueio de sítios livres reativos e incubados

novamente, durante 2 horas, a 37°C. Em seguida, adicionou-se aos poços os soros testes dos animais na diluição de 1:100, em solução de PBS-T-20 e leite desnatado a 1%. A placa foi novamente incubada por 1 hora a 37°C. Passado esse período, os poços foram lavados cinco vezes com uma solução de PBS-T-20 e incubados novamente durante 1 hora a 37°C, com anticorpo anti-Imunoglobulina de cabra marcado com peroxidase (Sigma), diluído em PBS-T-20 na proporção de 1:10.000. Depois de lavados como mencionado anteriormente, a revelação da reação foi realizada com substrato de 4 mg de OPD (orthophenylene-diamine) em presença de 4 µL O<sub>2</sub> H<sub>2</sub> + 10 ml de tampão citrato e a leitura feita em espectrofotômetro com filtro de 490 nm após 15 minutos. Todas as amostras foram submetidas ao ELISA indireto para *C. pseudotuberculosis* (ZERBINATI, 2007) com a finalidade de verificar reação cruzada. As placas de poliestireno de fundo chato (marca COSTAR 3590) foram sensibilizadas com 100 µl do antígeno BMD, diluído a 1:100, em tampão carbonato, bicarbonato 0,05M, pH 9,6, incubadas a 4°C por 6 horas. Após duas lavagens com PBS contendo 0,1% de tween-20, as placas foram bloqueadas com 200 µl/poço de PBS-T-20 contendo 5% de leite desnatado (Molico), durante duas horas. A seguir, foram incubadas com 50 µl/poço dos soros-teste diluídos a 1:100 em PBS-T-20 contendo 0,5% de BSA (Soro Fetal Bovino) durante uma hora. Após 5 lavagens em PBS-T-20, adicionou-se às placas 50 µl de imunoglobulinas de coelho anti-imunoglobulina de caprino, conjugada à peroxidase (DAKO), diluída a 1:10.000 em PBS-T-20. As placas foram incubadas a 37°C por 45 minutos e, em seguida, lavadas cinco vezes em PBS-T-20 e incubadas com 50 µl/poço da solução reveladora (10 ml de tampão cítrico-fosfato pH 5,1 + ortofenilenodiamina 4 mg + 4 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), freando a reação com 25 µl do ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 4N. A leitura foi realizada em leitor de ELISA, utilizando filtro de 490 nm de comprimento de luz.

### Imunodifusão em gel de agarose (IDGA) – Kit comercial

O teste é produzido utilizando-se antígeno concentrado de sobrenadantes de culturas celulares infectadas com CAEV e soro positivo colhido de animal naturalmente infectado. O teste é indicado para detecção de anticorpos anti-p28 em soros de caprinos infectados por CAEV. O teste proposto neste trabalho foi padronizado pelo Biovetech (Biotecnologia para Saúde Animal) – Kit para diagnóstico de CAEV. Preparação da agarose: aquecimento do frasco contendo agarose em banho-maria com água fervente até plena dissolução. Quando a agarose permanece perfeitamente transparente, distribuir 14 ml, usando uma pipeta pré-aquecida, em placa de Petri de 90 mm de diâmetro, colocada em posição horizontal. Esperar a sua solidificação, mantendo a tampa aberta por cerca de 15 minutos para permitir a eliminação do vapor de água, e em seguida colocá-la no refrigerador, mantendo a temperatura entre 4° e 8°C. Perfuração da agarose: usando um cortador capaz de formar sete cavidades, de 4 mm de diâmetro e 3 mm de distância entre as bordas, sendo uma central e seis periféricas equidistantes, perfurar a agarose e remover, por aspiração, todos os pequenos cilindros formados. Distribuição dos reagentes: antes da distribuição, homogeneizar os reagentes com leves movimentos circulares. Os reagentes foram distribuídos de acordo com a seguinte sequência: nas seis cavidades periféricas de maneira alternada acrescentou-se 20 µl do soro teste e 20 µl do soro controle positivo e na cavidade central, 20 µl do antígeno. Após a distribuição dos reagentes, as placas foram colocadas em atmosfera úmida à temperatura entre 20° e 25°C, por 48 horas. Em seguida foi realizada a leitura em um ovoscópio.

## ESTUDO ESTATÍSTICO

O ponto de corte foi determinado pela fórmula citada por Frey, Di Canzio e Zurakowski (1998):

Ponto de corte = Média dos não reagentes + 3. Desvio-padrão.

Ponto de corte = 0,276022 + 3.(0,36534)

Ponto de corte = 0,385624

### Cálculo da concordância

A obtenção da concordância entre as duas técnicas foi determinada por meio de um cálculo realizado a partir da fórmula citada por Mathias et al. (1998).

### Determinação da sensibilidade e especificidade

A determinação da sensibilidade e especificidade relativa do ensaio imunoenzimático (ELISA indireto) e do IDGA, foi realizada conforme descrito por Mathias et al. (1998), considerando doentes aqueles animais que apresentavam sintomatologia clínica da CAEV e são os animais que não apresentavam nenhuma sintomatologia aparente.

## RESULTADOS

Das 79 amostras analisadas neste experimento, foi observado que dentre as 46 sem sintomatologia clínica submetidas ao ELISA indireto foi encontrada Absorbância (Abs) variando entre 0,2 – 0,346. Nenhuma destas foi considerada sororreagente de acordo com o ponto de corte determinado (0,385), conforme Figura 1, demonstrando um bom desempenho com especificidade de 100%.

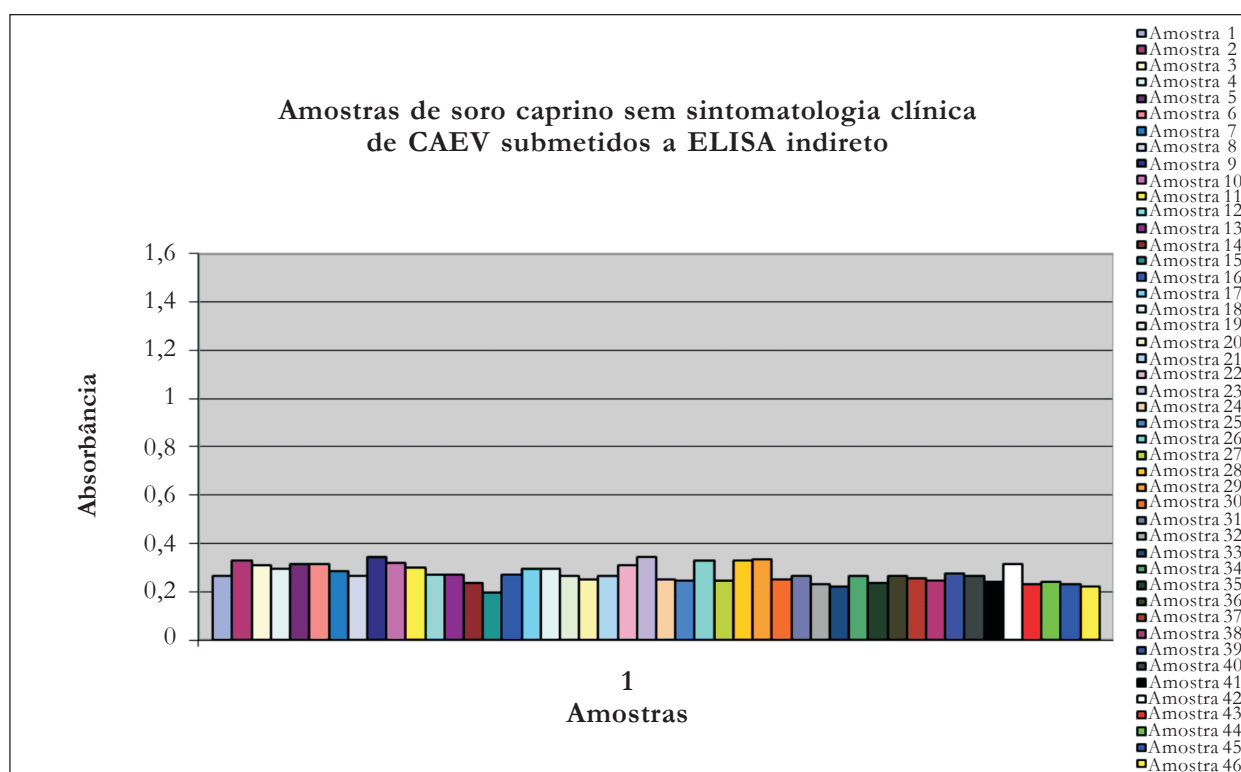


FIGURA 1 - Variação de absorbância de soro caprino de animais sem sinais clínicos para CAEV submetidos ao teste ELISA indireto

Dentre as 33 amostras com sintomatologia clínica avaliadas pelo ELISA indireto, verificou-se que a Abs variou de 0,354 – 1,5, determinado pelo ponto de corte (0,385) encontrado. Observou-se que apenas 2 amostras apresentaram valor de Abs abaixo do ponto de corte, restando 31 amostras sororreagentes, como identificado na Figura 2, apresentando sensibilidade de 93,93%.

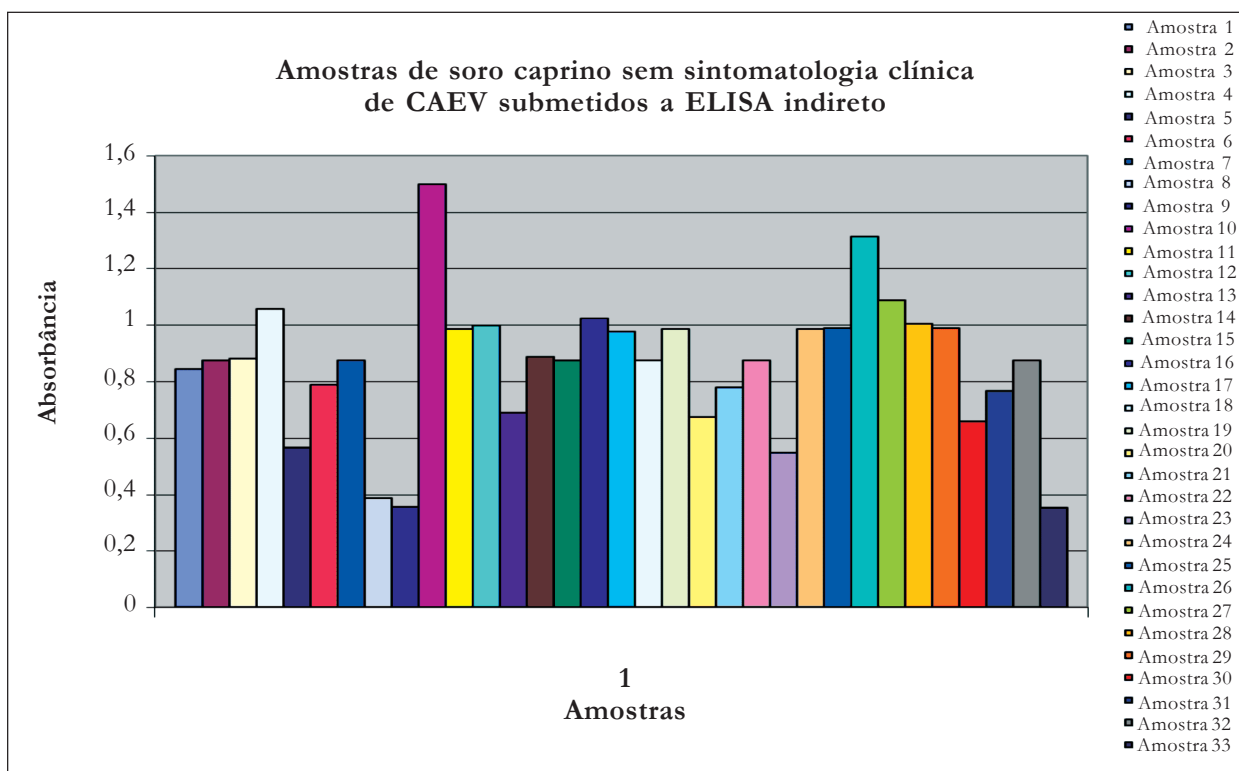


FIGURA 2 - Variação da absorbância de soro caprino de animais com sinais clínicos para CAEV submetidos ao teste ELISA indireto

Das 79 amostras, 39 foram submetidas ao IDGA, das quais 24 apresentavam sinais clínicos e 15 não apresentavam sinais clínicos, sendo observado, então, que 11 com sinais clínicos apresentaram reação ao teste e 13 não apresentaram. Das 15 amostras sem sinais clínicos apenas 1 apresentou reação ao IDGA, como pode-se observar na Figura 3. Detectou-se que o teste apresentou sensibilidade de 45,83% e especificidade de 93,33% comparado ao teste ELISA indireto.

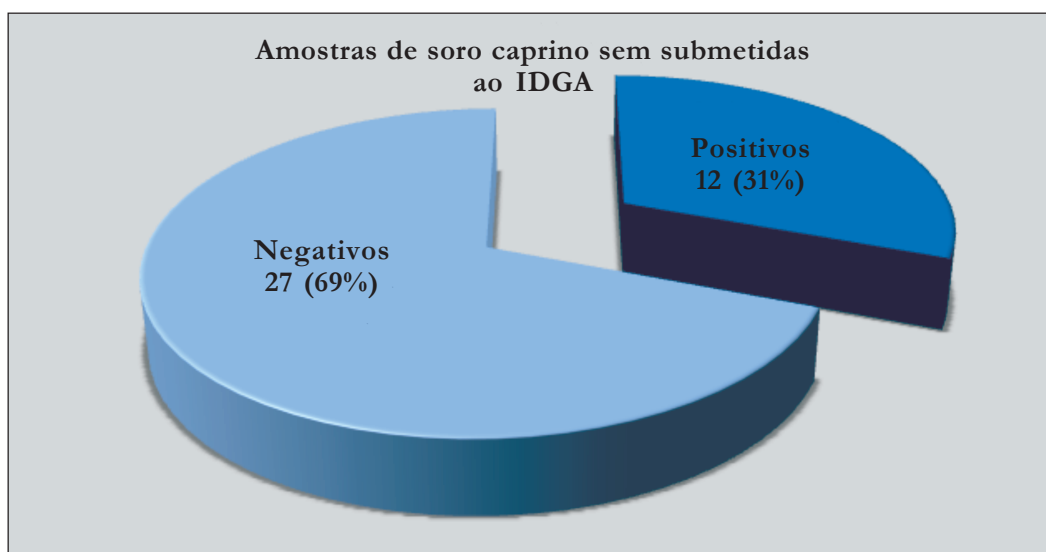


FIGURA 3 - Amostras de soro caprino reagentes e não reagentes submetidos ao teste de IDGA

Todas as 79 amostras foram avaliadas no ELISA indireto para *C. pseudotuberculosis*, como preconizado por Zerbinatti (2007), na qual se verificou Abs variando de 0,1 – 0,3, sendo considerada não reagente para um ponto de corte de 0,310, demonstrando que não houve reação cruzada entre os antígenos (Figura 4).

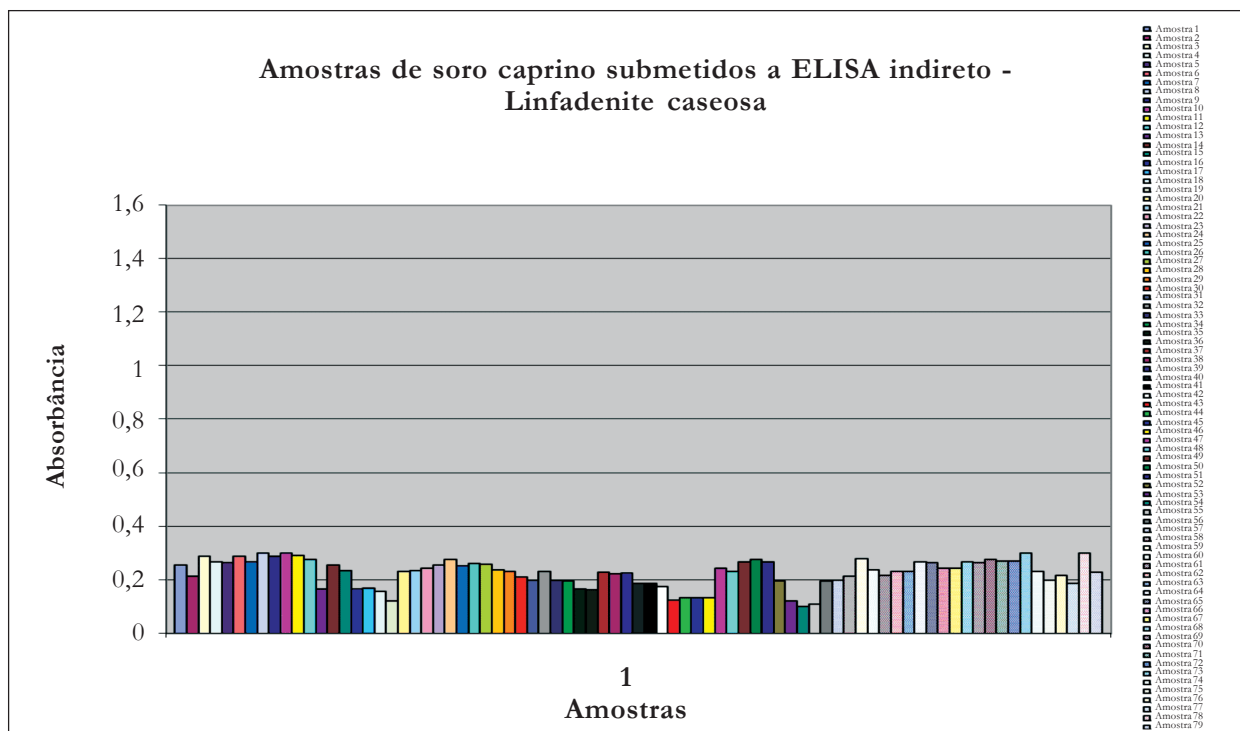


FIGURA 4 - Variação de absorbância de soro caprino submetidos ao ELISA indireto para *C. pseudotuberculosis*

A análise da concordância entre os testes foi identificada em torno de 97,43%, demonstrando que os dois testes apresentaram bom desempenho podendo ser utilizados nos programas de controle e erradicação da enfermidade e estabelecendo um grau de confiabilidade maior nas provas de imunodiagnósticos, como visto na Tabela 1.

TABELA 1 - Demonstração da concordância entre o número de amostras positivas e negativas nos testes sorológicos ELISA indireto e IDGA

Testes	Positivos	Negativos	Concordância %
ELISA indireto	31	48	97,43
IDGA	12	27	
Total	43	75	97,43

## DISCUSSÃO

A CAEV, por ser uma infecção viral, apresenta um comportamento que dificulta seu diagnóstico por causa da soroconversão tardia (CASTRO, 1998), além de uma complexa patogenia da qual muitos animais são portadores assintomáticos, apresentando baixos títulos de anticorpos e pelo isolamento viral ser uma técnica trabalhosa e demorada. O uso de novas técnicas mais sensíveis

possibilita a sua utilização, complementando o diagnóstico clínico, bem como por serem utilizadas em pesquisas epidemiológicas. Com a técnica de ELISA pode-se detectar animais que apresentem baixos títulos de anticorpos, o que pode não ocorrer com o IDGA. Torres (2005), utilizando ELISA indireto, pôde verificar que 22% das amostras negativas no IDGA foram sororreagentes no ELISA, observação semelhante aos resultados encontrados neste estudo, 33 amostras com sinais clínicos submetidas ao ELISA 31 (93,93%) foram reagentes, enquanto que das 24 amostras com sinais clínicos avaliadas pelo IDGA, somente 11 (45,83%) foram reagentes. Os valores de sensibilidade e especificidade do presente estudo foram respectivamente 93,93% e 100% para o teste ELISA indireto, no qual se verifica que a sensibilidade apresentou pequena diferença visível obtendo-se 100% para os resultados descritos por Lara et al. (2002) e a especificidade de 83,8% representativamente diferente dos identificados pelo presente experimento que mensurou percentual superior. Contudo, Cortez-Moreira, Oelemann e Lilenbaum (2005) encontraram resultados de sensibilidade 100%, pouco diferente dos encontrados neste experimento, que foi de 93,93%. Com relação à especificidade, os resultados obtidos no presente experimento, de 100%, foram expressivamente diferentes do trabalho citado, 70,8%. Lara et al. (2002), comparando a IFI com o IDGA, encontraram 98,25% de sensibilidade e 79,28% de especificidade para a técnica IFI, pouco diferentes dos resultados de sensibilidade e significativamente diferente da especificidade do ELISA indireto encontrados neste estudo, demonstrando que as duas técnicas, ELISA e imunofluorescência, podem detectar animais com baixos títulos de anticorpos. Ao comparar o IC com o teste sorológico de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), o primeiro apresentou baixa sensibilidade (33,3%) e alta especificidade (93,1%) (SARAIVA NETO et al., 1995), resultados expressivamente diferentes dos obtidos pelo presente experimento que, apesar de utilizar técnicas diferentes, demonstrou melhor desempenho com relação à sensibilidade e especificidade das provas de imunodiagnóstico padronizada. Rutkoski et al. (2001), comprovando a infecção pelo CAEV por meio do teste sorológico IDGA e pela detecção de DNA proviral utilizando “primers” degenerados, obtiveram 25/80 amostras positivas pelo IDGA e 16/80 pela técnica de PCR. Apesar do IDGA ter detectado maior número de animais sororreagentes, o PCR identificou animais positivos, os quais foram inconclusivos no IDGA. Partindo desses resultados, os autores propuseram haver a possibilidade de baixa carga viral pela presença de altos títulos de anticorpos circulantes, explicando a pequena quantidade de células com o provírus, reduzindo, desta forma, a eficácia do PCR. Frota et al. (2005), ao submeter um grupo de caprinos a dois exames pelas técnicas de IDGA e PCR, observaram que alguns dos animais (35 - 76,08%) que foram negativos ao teste de IDGA duas vezes consecutivas foram positivos à técnica de PCR, demonstrando desta forma que a utilização de técnicas mais sensíveis, como a PCR, é imprescindível para obtenção de rebanhos livres desta infecção. Resultados como este são ratificados em experimentos conforme o presente trabalho no qual o ELISA indireto apresenta melhor desempenho comparado com o IDGA.

## CONCLUSÃO

Foi observado neste trabalho que a CAEV está amplamente disseminada por todos os Estados do Brasil, tornando-se uma enfermidade de grande importância para a caprinocultura do país por causa dos prejuízos econômicos que vem causando.

O teste ELISA indireto desenvolvido neste experimento apresentou sensibilidade de 93,93%, sendo recomendado como um teste de triagem.

No estudo da especificidade foi identificado um bom desempenho do ELISA indireto com valor de 100%.

A concordância entre o teste ELISA indireto e o IDGA foi de 97,43%, demonstrando bom desempenho entre os testes.

Fazem-se necessários mais estudos para o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico mais eficazes para facilitar a identificação da CAEV e possibilitar maior identificação de focos de infecção no rebanho nacional.



Devem-se estabelecer programas com medidas controle, bem como realizar levantamentos soroepidemiológicos para saber a real situação da Bahia quanto à presença desta enfermidade.

## REFERÊNCIAS

- CALLADO, A. K. C.; CASTRO, R. S.; TEIXEIRA, M. F. S. Lentivírus de pequenos ruminantes (CAEV e Maedi-Visna): revisão e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 3, p. 87-97, 2001.
- CASTRO, R. S. Efeito do CAE - artrite-encefalite caprina - na saúde e produtividade de cabras leiteiras. In: ENCONTRO NACIONAL PARA O DESENVOLVIMENTO DA ESPÉCIE CAPRINA, 1., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 1998. Disponível em: <<http://www.caprtec.com.br/art14.htm>>. Acesso em: 15 de jul. 2006.
- CASTRO, R. S.; MELO, L. E. H. CAEV e Maedi-Visna: importância na saúde e produtividade de caprinos e ovinos e a necessidade de seu controle no nordeste brasileiro. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v. 4, n. 2/3, p. 315-320, 2001.
- CORTEZ-MOREIRA, M.; OELEMANN, W. M. R.; LILENBAUM, W. Comparison of serological methods for the diagnostic of caprine arthritis-encephalitis (CAE) in Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 36, p. 48-50, 2005.
- EAST, N. E. Encefalite/artrite caprina. In: SMITH, B. P. **Tratado de medicina veterinária interna de grandes animais: moléstias de eqüinos, bovinos, ovinos e caprinos**. São Paulo: Manole, 1993. p. 1138-1139.
- FREY, A.; DI CANZIO, J.; ZURAKOWSKI, D. A. Statistically defined endpoint titer determination method for immunoassays. **Journal Immunological Methods**, Amsterdam, n. 221, p. 35-41, 1998.
- FROTA, M. N. L. et al. Artrite-encefalite caprina em cabritos de rebanhos com programa de controle no Estado do Ceará. **Arquivo do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 72, n. 2, p. 147-152, 2005.
- LARA, M. C. C. S. H. et al. Identificação imuno-sorológica de anticorpos anti-vírus da artrite-encefalite dos caprinos: comparação das técnicas de imunodifusão em gel de agar, ensaio imunoenzimático e imunofluorescência indireta. **Arquivo do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 69, n. 4, p. 1-5, 2002.
- LARA, M. C. C. S. H.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; BIRGEL, E. H. Possibility of vertical transmission of caprine arthritis-encephalitis vírus in neonate kids. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 57, n. 4, p. 553-555, 2005.
- LARA, M. C. C. S. H. et al. Aspectos clínicos da artrite-encefalite dos caprinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 6, p. 737-740, 2005.
- MATHIAS, L. A. et al. Avaliação de um teste imunoenzimático competitivo no diagnóstico sorológico da brucelose em búfalos (*Bubalus bubalis*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3/4, p. 111-114, 1998.
- PINHEIRO, R. R. et al. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 5, p. 534-543, 2000.
- PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F. Prevalência da infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 449-454, 2001.

RUTKOSKI, J. K. et al. Detecção da infecção pelo vírus da artrite-encefalite caprina: imunodifusão em agar e reação em cadeia da polimerase com “primers” degenerados. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 6, p. 1-9, 2001.

SARAIVA NETO, A. O. et al. Estudo soro-epidemiológico da artrite-encefalite caprina em Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 4, p. 121-124, 1995.

TORRES, J. A. **Detecção de anticorpos contra o vírus da artrite-encefalite caprina (CAE) utilizando um ensaio imunoenzimático (ELISA)**. 2005. 58 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Medicina Veterinária) – Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2005.

ZERBINATI, J. **Produção e padronização de um antígeno para um teste ELISA indireto no diagnóstico da linfadenite caseosa em soros caprinos**. 2007. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Medicina Veterinária) – União Metropolitana de Educação e Cultura, Lauro Freitas, BA, 2007.

Recebido: 17/01/2009

*Received:* 01/17/2009

Aprovado: 20/03/2009

*Approved:* 03/20/2009