

Sobral, CE / Fevereiro, 2025

Avanços biotecnológicos no diagnóstico da artrite encefalite caprina por meio da proteômica



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Caprinos e Ovinos
Ministério da Agricultura e Pecuária***

ISSN 1676-7659

Documentos 158

Fevereiro, 2025

Avanços biotecnológicos no diagnóstico da artrite encefalite caprina por meio da proteômica

*Ângela Maria Xavier Eloy
Raymundo Rizaldo Pinheiro
Francisco Selmo Fernandes Alves
Tatiana Farias Santos
Ana Edvirgens Vasconcelos de Souza
Ana Milena Cesar Lima*

***Embrapa Caprinos e Ovinos
Sobral, CE
2025***

Embrapa Caprinos e Ovinos
Fazenda Três Lagoas,
Estrada Sobral/Groaíras, Km 4
Caixa Postal 71
62010-970 - Sobral, CE
www.embrapa.br/caprinos-e-ovinos
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
Presidente
Cícero Cartaxo de Lucena
Secretária-executiva
Tânia Maria Chaves Campêlo
Membros
Alexandre Weick Uchôa Monteiro
Ângela Maria Xavier Eloy
Carlos José Mendes Vasconcelos
Klinger Aragão Magalhães
Máira Vergne Dias
Marcel Teixeira
Zenildo Ferreira Holanda Filho

Edição executiva
Tânia Maria Chaves Campêlo
Revisão de texto
Carlos José Mendes Vasconcelos
Normalização bibliográfica
Tânia Maria Chaves Campêlo
Projeto gráfico
Leandro Sousa Fazio
Diagramação
Máira Vergne Dias
Foto da capa
Raymundo Rizaldo Pinheiro

Publicação digital: PDF

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Caprinos e Ovinos

Avanços biotecnológicos no diagnóstico da artrite encefalite caprina por meio da proteômica /
Ângela Maria Xavier Eloy... [et al.]. - Sobral : Embrapa Caprinos e Ovinos, 2025.
PDF (14 p.) : il. color. - (Documentos / Embrapa Caprinos e Ovinos, ISSN 1676-7659 ;
158).

1. Caprino. 2. Doença animal. 3. Diagnóstico. 4. Biotecnologia. I. Pinheiro, Raymundo
Rizaldo. II. Alves, Francisco Selmo Fernandes. III. Santos, Tatiana Farias. IV. Souza, Ana
Edvirgens Vasconcelos de. V. Lima, Ana Milena Cesar. VI. Série.

CDD (21.ed.) 636.39089

Autores

Ângela Maria Xavier Eloy

Médica-veterinária, doutora em Fisiologia Animal, pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE

Raymundo Rizaldo Pinheiro

Médico-veterinário, doutor em Ciência Animal, pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE

Francisco Selmo Fernandes Alves

Médico-veterinário, PhD em Patologia Comparada, pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE

Tatiana Farias Santos

Zootecnista, mestranda em Zootecnia, autônoma, Sobral, CE

Ana Edvirgens Vasconcelos de Souza

Médica-veterinária, mestranda em Zootecnia, bolsista da Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap), Sobral, CE

Ana Milena Cesar Lima

Zootecnista, doutora em Zootecnia, bolsista da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE

Apresentação

A utilização das técnicas biotecnológicas em sanidade de caprinos e ovinos tem contribuído para o diagnóstico de diversas enfermidades melhorando a qualidade e trazendo agilidade nesses processos. Dentre as enfermidades que podem ser diagnosticadas utilizando as biotécnicas está a artrite encefalite caprina (CAE). A CAE é uma doença viral, crônica, que acomete principalmente caprinos leiteiros.

O documento produzido pela competente equipe de doenças infecciosas da Embrapa Caprinos e Ovinos disponibiliza para os leitores informações atuais e relevantes sobre avanços no diagnóstico da artrite encefalite caprina através das ferramentas proteômicas que são técnicas biotecnológicas, que estudam a distribuição, abundância, modificações, interações e as funções das proteínas, ou conjunto de proteínas em uma célula ou organismo

contribuindo de forma inovadora para o diagnóstico dessa enfermidade.

A publicação contribui trazendo informações que alinham as prioridades de dois Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), estabelecidos pela Agenda 2030 da Organização das Nações Unidas (ONU): ODS 2 - Fome Zero e Agricultura Sustentável, com aderência a metas de pesquisa que podem contribuir para a sustentabilidade na produção agrícola, melhorando a saúde dos animais e, consequentemente, a segurança alimentar e a eficiência da pecuária caprina, e ODS 3 - Saúde e Bem-Estar, na meta 3.4 - Promover a saúde e bem-estar para todos, em todas as idades, tendo em vista que avanços na biotecnologia para diagnóstico de doenças em animais contribui diretamente relacionado com a saúde e o bem-estar humano e animal.

Ana Clara Rodrigues Cavalcante
Chefe-Geral da Embrapa Caprinos e Ovinos

Sumário

Introdução	6
Artrite encefalite caprina	6
Proteômica	6
Aplicação da proteômica	7
Uso da proteômica no diagnóstico da CAE	8
Testes usados para diagnóstico da CAE	8
Eletroforese bidimensional (2DE) na infecção pelo vírus da CAE na fase aguda	9
Eletroforese bidimensional (2DE) na infecção pelo vírus da CAE na fase crônica	10
Considerações finais	10
Referências	11

Introdução

Artrite encefalite caprina

No Brasil, a CAE está presente em rebanhos que abrangem do Norte ao Sul do país e apresenta elevado índice de morbidade. O agente etiológico faz parte do gênero *Lentivirus*, subfamília *Orthoretrovirinae* e família *Retroviridae*, pertencente à mesma família do vírus da imunodeficiência humana: *Human immunodeficiency virus* (HIV). Esse vírus tem vários mecanismos de escapes, como exemplo, a compartimentalização, permitindo que ele se oculte em determinados estágios da doença, dificultando o seu diagnóstico e, consequentemente, seu controle (Bezerra Junior et al., 2018).

Essa infecção viral apresenta alta transmissibilidade (Nascimento-Penido et al., 2017). A CAE ocorre por meio do contato direto entre os animais infectados e sadios, entre recém-nascidos e a matriz, por ocasião da transmissão intrauterina (Andrioli et al., 2006), no parto, e na ingestão do colostro e leite contaminados (Araújo et al., 2021), além das vias sexual e iatrogênica. Lara et al. (2005) afirmaram que a maioria das cabras pode se infectar precocemente, aumentando as chances com a maturidade.

Dentre os prejuízos econômicos, enfatiza-se a diminuição da produção láctea, perda de peso dos animais, alteração da qualidade do leite e descarte de animais (Peterhans et al., 2004; Pinheiro et al., 2004). De acordo com Mussi (2014), nos estados da região Sudeste, onde prevalece a caprinocultura leiteira em sistema de criação intensivo, a transmissão do CAEV é facilitada devido à aglomeração de animais. Na região Nordeste, no entanto, em razão do sistema de criação ser em sua grande maioria semi-intensiva ou extensiva, a disseminação da doença é menor, embora em criatórios de caprinos leiteiros intensivo a CAE esteja fortemente presente. Em estudo realizado com reprodutores caprinos em sete estados no Nordeste brasileiro, Sousa et al. (2019) encontraram 11,2% (28/215) das propriedades com reprodutores positivos para CAE.

Proteômica

As proteínas são macromoléculas versáteis do organismo vivo e desempenham funções essenciais em todos os processos biológicos. Elas funcionam como catalisadoras, transportadoras, armazenadoras de outras moléculas, suporte mecânico e proteção imunológica. Também apresentam movimento, transmitem impulsos nervosos e controlam o crescimento e a diferenciação celular (Berg et al., 2002).

A síntese da proteína é complexa e rigidamente controlada dentro de cada célula, consistindo em duas etapas principais: transcrição e tradução, que juntas são conhecidas como expressão gênica. O fluxo de informações do ácido desoxirribonucleico (DNA) para o ácido ribonucleico (RNA) na síntese das proteínas é um dos princípios fundamentais da biologia celular, sendo considerado dogma central. Francis Crick em 1958 foi quem estabeleceu esse termo, explicando o fluxo do código genético.

A transcrição é um processo no qual ocorre a síntese de RNA a partir das informações contidas no DNA. Nesse processo, o DNA é transcrito em uma fita de RNA simples, que se torna complementar ao DNA. O tipo de RNA que contém a informação para a produção de uma proteína é chamado de RNA mensageiro (mRNA), pois carrega informações do DNA do núcleo da célula para o citoplasma. (Scheidt et al., 2005).

A tradução que ocorre no citoplasma é a etapa responsável pela passagem da informação de um gene para a elaboração de uma proteína. O mRNA interage com o RNA ribossômico (rRNA), o qual “lê” a sequência de bases do mRNA, que são três, chamada de códon, que codifica um determinado aminoácido. Depois, o RNA de transferência (tRNA) constrói a proteína, um aminoácido por vez (Knight; Andrade, 2018).

As proteínas são formadas com base em 20 tipos diferentes de aminoácidos, cada um com propriedades químicas específicas, as pontes de hidrogênio e de bissulfeto, podendo, assim, expressar reações de interação atrativa ou de repulsão.

O termo proteoma representa todo o conjunto de proteínas expressas por um genoma, célula, tecido ou organismo. Envolve as proteínas em todas as funções celulares, no controle de todos os

mecanismos reguladores internos e externos, sendo modificadas nos estados de doença (Wasinger et al., 1995). Vastos estudos nessa área são evidenciados pelo número de publicações desde 1996. Entre 1997 e 1998, o termo de pesquisa proteômica foi citado 22 vezes no PubMed, de 2001 a 2002, 1511, e 6697 de 2007 a 2008 (Nordon et al., 2009).

A identificação de proteínas ativas em um determinado estágio de uma doença oferece uma visão direta do processo da infecção (Wang et al., 2008), uma vez que proteínas estão envolvidas nas funções celulares, controlando todos os mecanismos reguladores e atuando como causa ou efeito, podendo até modificar-se diante da evolução da doença (Arrell et al., 2001). Por meio do estudo das proteínas, pode ser confirmada a função de um determinado gene e, então, a proteína expressa caracterizada. Portanto, a identificação de modificações do perfil proteico é um avanço sobre a compreensão das doenças.

O objetivo desta publicação é relatar os avanços da proteômica no diagnóstico da artrite encefalite caprina. Essa ferramenta se baseia em trabalhos que visam descobrir biomarcadores para o diagnóstico e prognóstico dessa enfermidade.

De forma geral, os estudos com proteínas tiveram um grande impulso com a técnica de eletroforese (Towbin et al., 1979) evoluindo com a eletroforese bidimensional (2DE), cromatografia líquida (LC) e espectrometria de massa (MS). Essas técnicas de biologia molecular têm fornecido subsídios para entender as funções das proteínas, dentre outras, o mecanismo de ação dessas, na patogenia das doenças. A 2DE é capaz de separar de 2.000 a 3.000 proteínas individuais, de acordo com o peso molecular (pM) e ponto isoelétrico (pI). Por intermédio dessas ferramentas, os laboratórios desenvolveram testes quantitativos para proteínas em amostras biológicas, facilitando a sua identificação.

A Figura 1 apresenta um exemplo da técnica 2DE em plasma seminal de caprinos nas épocas seca e chuvosa (Valle, 2012) visando caracterizar a influência das estações do ano na manifestação das proteínas.

O avanço da tecnologia tem colaborado com a pesquisa clínica, em especial em humanos, em que várias enfermidades já são diagnosticadas por meio da identificação de marcadores proteicos, como: o câncer, a periodontite, doenças virais e bacterianas (Cox, 2021). Nos animais, no entanto, o uso da proteômica vem avançando.

As técnicas baseadas em eletroforese têm vantagens e desvantagens para a detecção de biomarcadores proteicos. Apesar de fornecerem

informações relacionadas às proteínas detectadas, como pI e pM, essas têm limitação em comparação com a técnica baseada em MS. A MS é capaz de detectar proteínas de baixo pM e menos abundantes, na faixa entre picograma e nanograma. Salienta-se que os biomarcadores identificados por ambas as técnicas, (2DE e MS) exigirão, ainda, uma melhor caracterização e quantificação. Outras técnicas, baseadas no uso de anticorpos, são específicas, mas requerem uma predeterminação dos analitos, substância ou componente químico de uma amostra que é alvo de análise, em um ensaio. Portanto, a padronização da técnica é necessária para a pesquisa de biomarcadores.

Ponto isoelétrico (4 a 7)

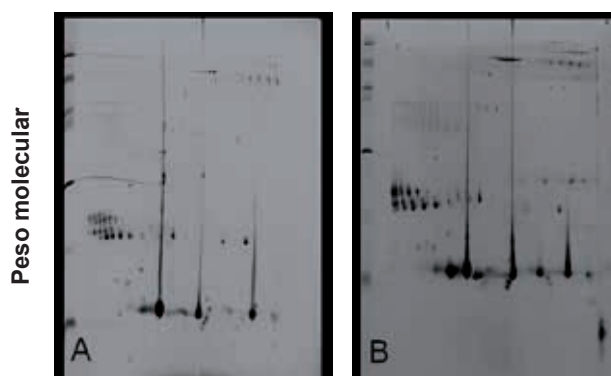


Figura 1. Perfil bidimensional de proteínas do plasma seminal de caprinos Moxotó, sendo o gráfico A o gel de referência do período chuvoso, e o B, o gel de referência do período seco.

Fonte: Valle (2012).

Aplicação da proteômica

Na aplicação de tecnologias ômicas, as amostras biológicas geram candidatos a biomarcadores, embora um número muito pequeno alcance a fase de caracterização para diagnósticos e no uso clínico. A escassez de testes e métodos confiáveis para estudos de validação de candidatos a biomarcadores é um problema a ser resolvido. De acordo com Hoofnagle e Bystrom (2018), as tecnologias proteômicas atuais estão proporcionando uma melhora significativa na compreensão dos diagnósticos moleculares usados na medicina humana.

As tecnologias proteômicas têm contribuído para o avanço de várias áreas e desenvolvimento de medicamentos por meio da avaliação comparativa de estados normais e patológicos; perfil de transcrição e/ou expressão das proteínas envolvidas; do

efeito benéfico e colateral, e da farmacogenômica. A maioria dos medicamentos e produtos biológicos de pequenas moléculas atua em alvos proteicos. Essas proteínas não agem isoladamente, mas estão inseridas em vias e redes celulares e interconectadas com muitas outras proteínas e componentes subcelulares (referenciar).

A proteômica necessita da bioinformática para processar os dados de massa bruta, da espectrometria, em informações de perfil proteico. Os programas de software mais importantes são aqueles que fazem o mapeamento de peptídeos, e/ou resultados de MS, e determinam a proteína ou a sequência de peptídeos que mais se aproxima dos dados experimentais (Yu et al., 2010; You et al., 2013).

Seguindo os estudos supracitados, foi realizada uma pesquisa pela equipe da Embrapa Caprinos e Ovinos (Pinto et al., 2019) visando estudar o perfil proteômico dos espermatozoides de caprinos da raça Saanen, com fertilidade comprovada, utilizando-se a 2DE, seguida pela espectrometria de massa (MALDI-TOF). Esse processo proporcionou o conhecimento do quadro proteico espermático dos caprinos. As proteínas foram separadas e analisadas pela eletroforese (2DE) e espectrometria de massa, sendo essas identificadas com o auxílio do banco de dados *Swiss Prot*. Foi encontrado um total de 31 proteínas envolvidas na reprodução. Identificaram-se proteínas de ligação em espermatozoides, para fusão com o óvulo, da membrana acrosomal, de enzimas metabólicas, de choque térmico, do citoesqueleto e da motilidade. A caracterização dessas proteínas esclarece os mecanismos da espermatogênese e as modificações que garantem o sucesso da fertilização.

Uso da proteômica no diagnóstico da CAE

A patogênese da CAE não é totalmente compreendida. Macrófagos infectados por vírus presentes no colostro são absorvidos intactos por intermédio da mucosa intestinal. A infecção é subsequentemente disseminada em vários tecidos por meio dessas células infectadas. A replicação viral periódica e a maturação de macrófagos induzem as lesões linfoproliferativas nos pulmões, membrana sinovial, plexo coroide e úbere. A persistência do vírus da CAE no hospedeiro é facilitada por sua capacidade de ser sequestrado como pró-vírus nas células

hospedeiras. A infecção induz uma resposta humoral e celular, mas nenhuma é protetora (Lofstedt, 2014).

O diagnóstico imunológico usado na CAE depende da determinação da presença de anticorpos séricos para esse vírus (Pinheiro et al., 2006). A persistência da infecção no rebanho é comum porque o vírus pode permanecer sem desenvolver a doença, sendo essa fase considerada de latência. Portanto, a presença dos anticorpos séricos indica apenas que há infecção e, não necessariamente, a doença. Vale salientar que os fatores responsáveis pelo aparecimento da doença em um animal ainda não estão devidamente esclarecidos (Modolo et al., 2009). A Figura 2 expõe um animal em estágio avançado da doença com problemas articulares e caquexia.



Foto: Raymundo Rizaide Pinheiro

Figura 2. Cabra com sequelas da infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina.

Testes usados para diagnóstico da CAE

Os testes sorológicos, entre eles a imunodifusão em gel de agarose (IDGA), baseiam-se na detecção de anticorpos específicos para o agente viral. Apesar de ser recomendado pela Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA), apresenta baixa sensibilidade e resultados falsos negativos. Modolo et al. (2009), em trabalho utilizando o teste IDGA (Figura 3) para o diagnóstico da CAE, em caprinos, observaram gradativamente a soroconversão dos animais. Aos seis meses, três animais apresentaram sorologia positiva; aos nove meses, outros cinco animais soro converteram e aos 12 meses os demais apresentaram resultado positivo. Isso é um indicativo de que a variação do período de soroconversão dificulta o diagnóstico sorológico precoce em alguns animais infectados, tornando-os

fonte importante de disseminação da infecção no rebanho. Nascimento-Penido et al. (2017) estudando propriedades, em Minas Gerais, observaram 49,5% (531/1.072) da ocorrência de anticorpos, por meio do IDGA, com resultados variando de acordo com a propriedade.

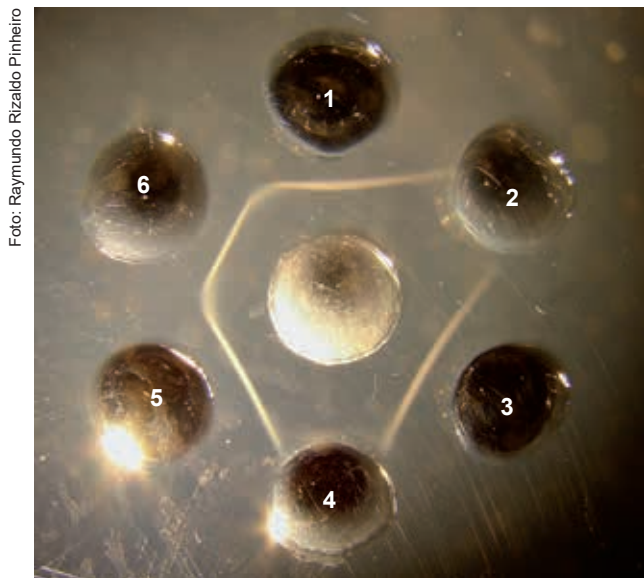


Figura 3. Teste de IDGA usando antígeno experimental da Embrapa Caprinos e Ovinos (poço central) frente aos soros do kit comercial (VMRD®). Poços positivos 1, 3, 5 e 6; poços negativos 2 e 4.

O teste de Western blotting (WB) (Figura 4) se baseia na formação de um complexo antígeno-anticorpo, e é visualizado, após a eletroforese e transferência do antígeno para uma membrana, por meio de um ensaio imunoenzimático (Bjerrum; Heegaard, 1988). Esse teste apresenta menor ocorrência de reações inespecíficas, reduzindo o aparecimento de resultados falso-negativos (Zanoni et al., 1989).

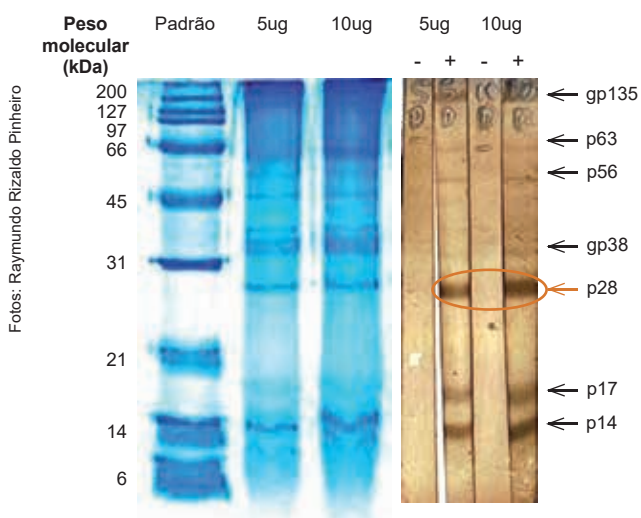


Figura 4. Teste de Western blotting para diagnóstico da artrite encefalite caprina.

Outra técnica de biologia molecular utilizada é a polymerase chain reaction (PCR) (Figura 5) que tem como objetivo amplificar cópias de um segmento de DNA, detectando parte do DNA complementar viral (Andrioli et al., 2006).

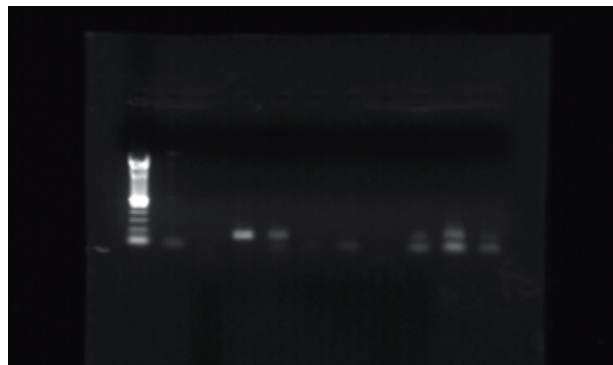


Figura 5. Teste de polymerase chain reaction (PCR) no diagnóstico da CAE.

Fonte: Andrioli et al. (2006).

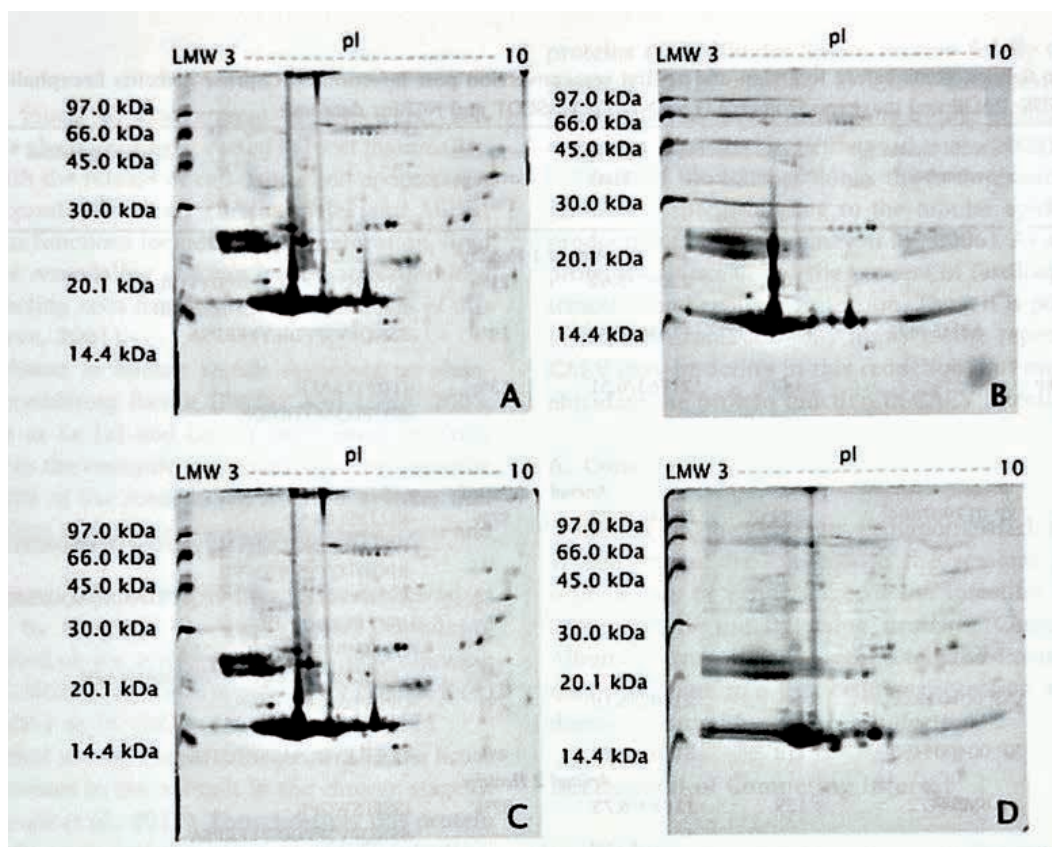
Eletroforese bidimensional (2DE) na infecção pelo vírus da CAE na fase aguda

A fase aguda da infecção pelo vírus da CAE ainda não foi bem estudada, e considerando o sistema imune inato participando da linha direta de defesa inicial da infecção, ferramentas proteômicas serviram para identificar proteínas e enzimas que possam estar presentes nesse estágio (Santos et al., 2019). Este estudo foi realizado no plasma seminal, antes e após a infecção pelo vírus da CAE, usando como diagnóstico da infecção os testes Western blotting e PCR. Neste material biológico, dos animais positivos e negativos, foi realizada a técnica 2DE (Figura 6) seguida de espectrometria de massa/MS e identificada as proteínas.

Na análise da figura 6, observou-se menor número de “spots” nos animais não infectados. Identificaram-se, na primeira soroconversão por meio do WB, expressão positiva e significativa da Clusterina, Zinco-alfa2-glicoproteína (ZAG-2), Prostaglandina-H2, D-isômeras precursor e Albumina do soro. A expressão da Cistatina C foi baixa, portanto não apresentou presença significativa.

Levando em consideração que a Clusterina em humanos se liga com afinidade muito alta ao DC-SIGN, um receptor de adesão celular e de reconhecimento de patógenos, que inibe a ligação do HIV-1 (Bezerra et al., 2018) sugere-se que essa proteína possa vir a ser um indicador da infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina (CAEV).

A. Animais não infectados



B. Animais infectados

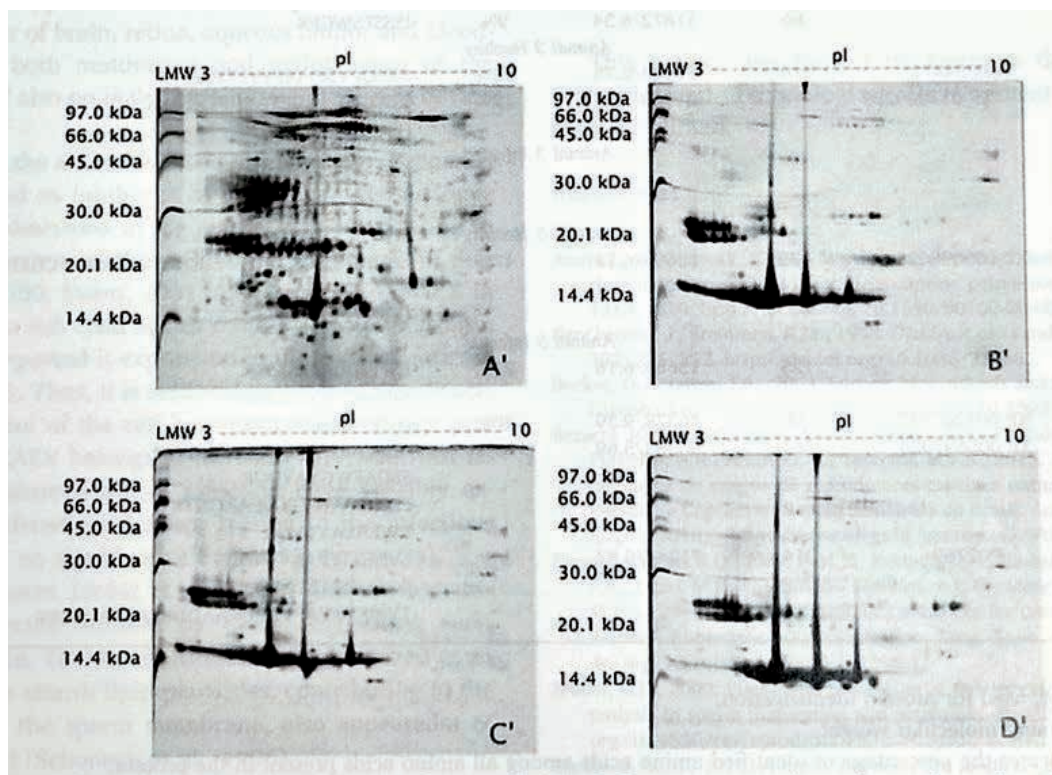


Figura 6. Eletroforese 2DE de caprinos Saanen não infectados e infectados e prevalência de distribuição dos spots variando de pI 3-10 e peso molecular (pM) de 14,4-97,0 kDa.

Fonte: Bezerra Junior et al. (2018).

Eletrforese bidimensional (2DE) na infecção pelo vírus da CAE na fase crônica

Em experimento com caprinos naturalmente infectados pelo CAEV, esta equipe de pesquisadores também conduziu um estudo para identificar o perfil de proteínas do plasma seminal e sua associação com a técnica de PCR e a soroconversão por western blotting. Dois grupos com cinco animais cada um, sendo o primeiro composto por animais naturalmente soropositivos e o segundo por soronegativos (controle), ambos confirmados pelos testes supracitados. O sêmen foi coletado por meio da vagina artificial e, em seguida, realizada 2DE e MS.

Encontraram-se, neste estudo, 13 proteínas diferentes com maior expressão, relacionadas à reprodução. São elas as espermadhesin Z13-like, bodhesin e bodhesin-2, lipocalin, proteína PDC-109-like e albumina. A presença dessas proteínas é um indicativo de que a reprodução não foi alterada durante a infecção pelo CAEV. Por outro lado, em animais infectados foram identificadas proteases como a arilsulfatase A, cuja função está relacionada ao controle do metabolismo das sulfatides, que são responsáveis, em condições normais, pela inibição da replicação do vírus (Bezerra Junior et al., 2018; Galiza et al., 2020). As outras proteínas observadas foram: dihidroxiacetona quinase bifuncional dependente de ATP/FAD-AMP liase; isoforma X1 da cathepsina F; desintegrina e isoforma de proteína 2 da metaloproteinase contendo a isoforma X1; clusterina; anidrase carbônica 2, subunidade beta secretora de flavoproteína glidêmica de transferência de elétrons; e peroxidase. Os resultados deste estudo mostram a reação do sistema imunoinato em caprinos cronicamente infectados pela CAE (Bezerra Junior et al., 2018), com ênfase na arilsulfatase A.

Considerações finais

A proteômica tem sido estudada para a elucidação da patogênese de diversas enfermidades. Os estudos relatados pela equipe de pesquisadores da Embrapa Caprinos e Ovinos sugerem duas proteínas, a clusterina e arilsulfatase A, como possíveis biomarcadores para CAE. Embora seja um forte indicativo de biomarcador, é improvável que uma única proteína seja específica e sensível o suficiente para a maioria das doenças, destacando-se

a necessidade de pesquisas mais abrangentes com envolvimento do metabolismo e suas funções.

De acordo com You et al. (2013), o foco na pesquisa de biomarcadores de doenças oculares, ou ligadas a outro órgão, seria mais bem direcionado para a investigação de painéis de biomarcadores específicos para as doenças.

O valor potencial do biomarcador de proteínas é analisado individualmente, e apenas os estudos usando a técnica do surface-enhanced laser desorption/ionization (SELDI) examinam painéis de biomarcadores. A espectrometria de massa surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight (SELDI-TOF) combina flexibilidade, poder de resolução e sensibilidade com alto potencial de rendimento, gerando uma plataforma proteômica adequada para pesquisas e aplicações clínicas. As plataformas SELDI têm sido usadas para identificar biomarcadores de proteínas em uma grande variedade de tipos de câncer, resultando em estratégias diagnósticas promissoras (Muthu et al., 2016).

Referências

- ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A. M. G.; MARTINS, A. de S.; PINHEIRO, R. R.; SANTOS, D.O. Fatores de risco na transmissão do lentivírus caprino pelo sêmen. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 8, p. 1313-1319, ago. 2006. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/AI-SEDE/36412/1/41n08a15.pdf>. Acesso em: 2 ago. 2023.
- ARAÚJO, J. F.; ANDRIOLI, A.; PINHEIRO, R. R.; PEIXOTO, R. M.; SOUSA, A. L. M. de; AZEVEDO, D. A. A. de; LIMA, A. M. C.; NOBRE, J. A.; AMARAL, G. P.; BRANDÃO, I. S.; TEIXEIRA, M. F. da S. Detection and isolation of small ruminant *lentivirus* in the amniotic fluid of goats. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 78, article101693, Oct. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101693>.
- ARRELL, D. K.; NEVEROVA, I.; VAN EYK, J. E. Cardiovascular proteomics: evolution and potential. **Circulation Research**, v. 88, n. 8, p. 763-773, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1161/hh0801.090193>.
- AZEVEDO, D. A. A. de; SANTOS, V. W. S. dos; SOUSA, A. L. M. de; PEIXOTO, R. M.; PINHEIRO, R. R.; ANDRIOLI, A.; TEIXEIRA, M. F. da S. Small ruminant lentiviruses: economic and productive losses, consequences of the disease. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, p. 1-10, e0552016, 2017.

- BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Biochemistry**. 5th ed. New York: W. H. Freeman, 2002. 1050 p.
- BEZERRA JUNIOR, R. Q.; ELOY, A. M. X.; FURTADO, J. R.; PINHEIRO, R. R.; ANDRIOLI, A.; MORENO, F. B.; LOBO, M. D. P.; MONTEIRO-MOREIRA, A. C. O.; MOREIRA, R. de A.; PINTO, T. M. F.; TEIXEIRA, M. F. da S. A panel of protein candidates for comprehensive study of Caprine Arthritis Encephalitis (CAE) infection. **Tropical Animal Health and Production**, v. 50, n. 1, n. 7, p. 43-48, Oct. 2018. DOI: <https://10.1007/s11250-017-1398-1>
- BJERRUM, O. J.; HEEGAARD, N. H. H. **Handbook of immunoblotting of proteins: technical descriptions**. Florida: CRC Press, 1988. v.1, 265 p.
- COX, T. R. The matrix in cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 21, n. 4, p. 217-238, 2021. DOI: <https://10.1038/s41568-020-00329-7>.
- GALIZA, Y. S. de; ELOY, A. M. X.; PINHEIRO, R. R.; PEIXOTO, R. M.; LIMA, A. M. C.; BARROSO, M. L. da S.; FONSECA, L. M. Study of metalloproteinases in the blood of goats experimentally infected with caprine encephalitis arthritis virus. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 6, p. 3165-3176, 2020. Suplemento 2. DOI: <https://10.5433/1679-0359.2020v41n6Supl2p3165>.
- HOOFNAGLE, A. N.; BYSTROM, C. Proteomics. In: RIFAI, N.; HORVATH, A. R.; WITTEWER, C. T. (ed.). **Principles and applications of molecular diagnostics**. 6th ed. Amsterdam: Elsevier, 2018. p. 381-401.
- KNIGHT, J.; ANDRADE, M. Genes and chromosomes 3: genes, proteins and mutations. **Nursing Times**, v. 114, n. 9, p. 60-64, 2018. Disponível em: <http://www.nursingtimes.net/clinical-archive/genetics/genes-and-chromosomes-3-genes-proteins-and-mutations-28-08-2018/>. Acesso em: 2 ago. 2023.
- LARA, M. C. C. S. H.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; GREGORY, L.; BIRGEL, E. H. Aspectos clínicos da artrite-encefalite dos caprinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 6, p. 736-740, dez. 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352005000600005>.
- LOFSTEDT, J. Overview of caprine arthritis and encephalitis. In: KAHN, C. M.; LINE, S.; AIELLO, S. E. (ed.). **The Merck veterinary manual**. 10th ed. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co, 2014.
- MARTÍNEZ-NAVALÓN, B.; PERIS, C.; GÓMEZ, E. A.; PERIS, B.; ROCHE, M. L.; CABALLERO, C.; GOYENA, E.; BERRIATUA, E. Quantitative estimation of the impact of caprine arthritis encephalitis virus infection on milk production by dairy goats. **The Veterinary Journal**, v. 197, n. 2, p. 311-317, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.12.020>
- MODELO, J. R.; STACCHISSINIA, A. V. M.; PADOVANI, C. R.; ARAUJO JÚNIOR, CASTRO, J. P.; RAVAZZOLO, A. P.; LEITE, B. L. S. PCR associated with agar gel immunodiffusion assay improve caprine arthritis-encephalitis (CAEV) control. **Small Ruminant Research**, v. 81, n. 1, p. 18-20, Jan. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.10.005>.
- MUSSI, J. M. S. **Perfil das propriedades comerciais com caprinos em Minas Gerais e sua relação com a soroprevalência do lentivírus de pequenos ruminantes**. 2014. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1843/SMOC-9N6GMK>. Acesso em: 9 jul. 2023.
- MUTHU, M.; VIMALA, A.; MENDOZA, O. H.; GOPAL, J. Tracing the voyage of SELDI-TOF MS in cancer biomarker discovery and its current depreciation trend – need for resurrection?”. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 95-101, Feb. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.10.004>.
- NASCIMENTO-PENIDO, P. M. P.; PENIDO, A. O.; GALINARI, G. C. F.; HEINEMANN, M. B.; LEITE, R. C. Ocorrência do vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) em cabras leiteiras produzidas em sistema intensivo confinado no estado de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 6, p. 577-581, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000600007>.
- NORDON, I.; BRAR, R.; HINCHLIFFE, R.; COCKERIL, G.; LOFTUS, I.; THOMPSON, M. The role of proteomic research in vascular disease. **Journal of Vascular Surgery**, v. 49, n. 6, p. 1602-1612, 2009. DOI: [10.1016/j.jvs.2009.02.242](https://doi.org/10.1016/j.jvs.2009.02.242).
- PETERHANS, E.; GREENLAND, T.; BADIOLA, J.; HARKISS, G.; BERTONI, G.; AMORENA, B.; ELIASZEWICZ, M.; JUSTE, R.A.; KRASSNIG, R.; LAFONT, J.P.; LENIHAN, P.; PÉTURSSON, G.; PRITCHARD, G.; THORLEY, J.; VITU, C.; MORNEX, J. F.; PÉPIN, M. Routes of the transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLs) infection and eradication schemes. **Veterinary Research**, v. 35, n. 3, p. 257-274, May/Jun. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1051/vetres:2004014>.
- PINHEIRO, R. R.; CHAGAS, A. C. de S.; ANDRIOLI, A.; ALVES, F. S. F. **Viroses de pequenos ruminantes**. Sobral: Embrapa Caprinos, 2003. 30 p. (Embrapa Caprinos. Documentos, 46). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/50926/1/Documentos-46.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2023.
- PINHEIRO, R. R.; GUIMARÃES, A. M. G.; ALVES, F. S. F.; ANDRIOLI, A. Perfil de propriedades no estado do Ceará relacionado à presença do lentivírus caprino. **Ciência Animal**, v. 14, n. 1, p. 29-37, 2004.

- PINHEIRO, R. R.; OLORTEGUI, C. D. C.; GOUVEIA, A. M. G.; ARAÚJO, S. C.; ANDRIOLI, A. Desenvolvimento de dot-blot para detecção de anticorpos para o vírus da artrite encefalite caprina em caprinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 101, p. 51-56, 2006.
- PINTO, T. M. F.; MOREIRA, R. F.; MATOS, M. N. C.; SOARES, V. V. M.; AGUIAR, M. V. de A.; ARAGÃO, P. de T. T. D. de; ALVES, J. G.; MORENO, F. B. M. B.; MONTEIRO-MOREIRA, A. C. O.; COSTA, C. R. R.; LIMA, J. L. FILHO.; ELOY, A. M. X.; CUNHA, R. M. S. Evaluation of the proteomic profiles of ejaculated spermatozoa from Saanen bucks (*Capra hircus*). **Animal Reproduction**, v. 16, n. 4, p. 902-913, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0001>.
- SANTOS, K. F. dos; ELOY, A. M. X.; MATOS, M. N. C.; PEIXOTO, R. M.; ARAGÃO, P. de T. T. D. de; PINHEIRO, R. R.; CUNHA, R. M. S. da. Use of proteomics in the study of the acute phase of caprine arthritis encephalitis in seminal plasma. **Small Ruminant Research**, v. 181, p. 39-44, Dec. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.10.004>.
- SCHEIDT, M. N. J.; FERRARI, N.; DELIZOICOV, D. A construção coletiva do conhecimento científico sobre a estrutura do DNA. **Ciência & Educação**, v. 11, n. 2, p. 223-233, ago. 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-73132005000200006>.
- SOUSA, M. M. de; ANDRIOLI, A.; PINHEIRO, R. R.; ALVES, F. S. F.; SANTOS, V. W. S. dos; DAMASCENO, E. M.; ARAÚJO, J. F.; SOUSA, A. L. M. de; VIEIRA, L. da S. An epidemiological study of caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) in breeder goats from Northeastern Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 5, p. 1857-1866, set./out. 2019. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n5p1857>.
- TOWBIN, H.; STAHELIN, T.; GORDON, J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 76, p.4350-4354, 1979.
- VALLE, R. V. do. **Variação sazonal das proteínas do plasma seminal de caprinos (*Capra hircus*) da raça Moxotó**. 2012. 75 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral.
- WANG, X. L.; FU, A.; SPIRO, C.; LEE, H. C. Clinical application of proteomics approaches in vascular diseases. **Proteomics Clinical Applications**, v. 2, n. 2, p. 238-250, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1002/prca.200780005>.
- WASINGER, V. C.; CORDWELL, S. J.; CERPA-POLJAK, A.; YAN, J. X.; GOOLEY, A. A.; WILKINS, M. R.; DUNCAN, M. W.; HARRIS, R.; WILLIAMS, K. L.; HUMPHERY-SMITH, I. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. **Electrophoresis**, v. 16, n. 7, p. 1090-1094, Jul. 1995. DOI: <https://doi.org/10.1002/elps.11501601185>.
- YOU, J.; WILLCOX, M. D.; MADIGAN, M. C.; WASINGER, V.; SCHILLER, B.; WALSH, B. J.; GRAHAM, P. H.; KEARSLEY, J. H.; LI, Y. Tear fluid protein biomarkers. **Advances in Clinical Chemistry**, v. 62, p.151-196, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1002/elps.1150160118510.1016/b978-0-12-800096-0.00004-4>.
- YU, L. R.; STEWART, N. A.; VEENSTRA, T. D. Proteomics: the deciphering of the functional genome. In: GINSBURG, G. S.; WILLARD, H. F. (ed.). **Essentials of genomic and personalized medicine**. Burlington: Academic Press, 2010. p. 89-96.
- ZANONI, R.; KREIG, A.; PETERHANS, E. Detection of antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus by protein G enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblotting. **Journal of Clinic Microbiology**, v. 27, n. 3, p. 580-582, 1989. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.27.3.580-582.1989>.

