

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Brucelose em bovinos do município de Soledade, Estado da Paraíba

Fernando Augusto Fernandes de Moraes

2008



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Brucelose em bovinos do município de Soledade, Estado da Paraíba

Fernando Augusto Fernandes de Moraes
Graduando

Dr. Albério Antonio de Barros Gomes
Orientador

Patos
Agosto de 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Fernando A. Fernandes de Moraes
Graduando

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Medico Veterinário.

APROVADA EM/...../.....

MÉDIA _____

Assinatura

Prof.: Dr. Albério Antônio de Barros Gormes

NOTA

Prof.: Dr. Sérgio Santos de Azevedo

NOTA

Prof^a.: Msc Nara Geane de A.Medeiros

NOTA

SUMÁRIO

	Pág..
LISTA DE TABELAS.....	07
RESUMO.....	08
ABSTRACT.....	09
1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1. Agente Etiológico.....	12
2.2. Hospedeiros.....	12
2.3. Patogenia.....	13
2.4. Sinais Clínicos.....	15
2.5. Diagnóstico.....	15
2.6. Transmissão.....	17
2.7. Controle.....	18
2.8. Importância em Saúde Pública.....	20
3. OBJETIVOS.....	21
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1. Animais.....	22
4.2. Amostragem.....	22
4.3. Colheita de sangue.....	22
4.4. Diagnóstico Sorológico.....	23
4.4.1 Prova do Antígeno Acidificado Tamponado.....	24
4.4.1.1 Materiais utilizados.....	24
4.4.1.2 Metodologia do teste.....	24
4.5. Análise Estatística.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
6. CONCLUSÃO.....	31
7. REFERÊNCIAS.....	32

Tabela 1 - Resultado da prova do Ácido Acidificado Tamponado e soroprevalência, correspondentes aos bovinos abatidos no das propriedades de Soledade, no Estado da Paraíba.

RESUMO

MORAES, Fernando Augusto Fernandes. **Soroprevalência de Brucelose em bovinos na cidade de Soledade, Estado da Paraíba** [Soroprevalence of brucellosis in bovine in of Soledade city, state of Paraíba]. 2008 p. Monografia (Conclusão do curso de Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Patos, 2008.

Foi feita a tentativa de determinar a soroprevalência de brucelose em bovinos leiteiros na cidade de Soledade, Estado da Paraíba, bem como verificada uma possível associação entre sexo dos animais e soropositividade para *Brucella abortus*. Para tanto, foram colhidas 371 amostras de soro no período de março a maio de 2007. O total de 18 machos e 353 fêmeas. Para o diagnóstico sorológico da brucelose bovina, foi utilizado o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) como prova de triagem. Não foi encontrado resultado significativo, tendo em vista que nenhum animal reagiu positivamente ao teste, não possibilitando qualquer relação entre o sexo dos animais.

Palavras-chave: Brucelose animal, soroprevalência, bovinos, Soledade – Estado da Paraíba.

ABSTRACT

MORAES. Fernando Augusto Fernandes, .**Seroprevalence of brucellosis in bovine in of Soledade city, state of Paraíba**. Patos, PB: UFCG, 2008. p. (Monograph for obtaining of Veterinary Medicine graduation).

1. Introdução

A brucelose bovina é causada pela bactéria *Brucella abortus* uma bactéria Gram negativa aeróbias imóveis e não formadoras de esporos apresentam-se em formato de bacilos curtos. A doença também é conhecida como Aborto Contagioso, Aborto Epizootico , Aborto Infeccioso, Febre do Mediterrâneo, Febre de Malta, Febre Ondulante e Melitococcia, é uma zoonose por ser transmissível entre animais e o homem. Animais com brucelose contaminam os pastos enquanto outros animais se infectam ingerindo pastagens, forragens e águas contaminadas. Humanos infectam-se através do manuseio de animais infectados ou tecidos como placenta e restos fetais ou ainda ingerindo leite contaminado com a bactéria tornando a doença de extrema importância sob o ponto de vista a saúde pública.

No Brasil, segundo dados oficiais, a prevalência da brucelose bovina é de aproximadamente 15 %, havendo grande variação entre estados e regiões (RIET-CORREA., 2006).

A brucelose é, dentre as doenças infecciosas do trato reprodutivo a mais importante além de uma das mais conhecidas da pecuária por ser umas das principais causas de prejuízos. As vacas disseminam um grande numero de microorganismos quando há abortamento e excreção pelo leite. No entanto a maioria das vacas permanece infectada de forma crônica não ocorrendo aborto, e desta forma os produtores não acreditam na doença ate que seja feito o diagnostico laboratorial.

A forma crônica contribui muito para disseminação da doença pelo rebanho, onde neste caso, o macho age como disseminador cobrindo vacas infectadas e vacas sadias num curto período de tempo. Isto ocorre quando a forma clinica não lhe incapacita de realizar a monta, embora haja infecção nas glândulas sexuais.

No Brasil em 2001 foi instituído o PNCEBT (Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose) pelo MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) que consiste em um conjunto de medidas sanitárias compulsórias, associadas a adesões voluntárias com a finalidade de reduzir a prevalência e incidência de novos focos de brucelose e tuberculose bem como criar um numero significativo de propriedades certificadas como livres dessas doenças oferecendo ao consumidor produtos de baixo risco sanitário.

2.Revisão de Literatura

2.1 Agente Etiológico

O gênero *Brucella* possui bactérias Gram negativas aeróbias, imóveis e não formadoras de esporos. Apresentam formatos de bacilos curtos de 0,5- 0,7 µm de diâmetro e 0,6-1,5 µm de comprimento. As espécies desse gênero são geneticamente iguais sendo que já foi proposto denominar e manter um único nome de espécie *B. melitensis*. As espécies conhecidas atualmente são consideradas sub-espécies (por exemplo *B. melitensis* subespécie *abortus*) cada espécie possui um hospedeiro preferencial mas não exclusivo. Com exceção de *B. ovis* e *B. Neotomae* todas as outras já foram encontradas no homem. São resistentes a inativação ao meio ambiente (RIET CORREA ., 2006).

A *B. abortus* deve ser incluída entre os microorganismos relativamente resistentes apesar de não formar esporos . Efetivamente permanecem vivas ate 100 dias em ambientes úmidos, ate 75 dias em fezes úmidas de vaca, até 14 dias em águas paradas com temperaturas ao redor de 4 °C e também ate 120 dias nas membranas fetais secas e fragmentadas (BEER, 1998).

2.2 Hospedeiros

O gênero *Brucella* pode infectar diversas espécies, eqüinas, suínas, ovinos, cães, alguns animais silvestres tais como alce, cervo, coiote, gambá e outros ruminantes silvestres sendo os bovinos os mais importantes (RADOSTITIS., *et al* 1994).

Não há especificidade quanto ao hospedeiro que infectam, mas existe uma predileção por determinada espécie animal. Assim a *B. abortus* acomete preferencialmente bovinos, a *B. suis* suínos, a *B. melitensis* caprinos, a *B. ovis* ovinos e a *B. canis* canídeos (CARTER, 1991).

Os filhos de vacas brucélicas se infectam durante a gestação, com a brucela persistindo em seus pulmões e linfonodos regionais. Os bezerros, ao ingerirem leite contaminado poderão albergar o agente nos linfonodos que drenam o trato gastro intestinal, e excretar brucelas nas fezes. (ORGANIZACIÓ MUNDIAL DE LA SALUD, 1986) .

Nos bovinos a infecção ocorre em animais de todas as idade, porem, sendo mais comum nos animais sexualmente maduros, particularmente nos bovinos leiteiros (RADOSTITIS., *et al* 1994).

Geralmente, a *B. abortus* não é transmitida aos suínos e, quando isso ocorre, a infecção é transitória, podendo servir de fonte de infecção para bovinos. Os ovinos são mais resistentes que caprinos, mas em ambos pode ocorrer infecção ocasional, sendo a epididimite e o abortamento os principais sintomas nos ovinos e caprinos, respectivamente (BATHKE *et al.*, 1988).

Os eqüídeos são menos susceptíveis à *B. abortus* e considerados elementos quase sempre terminais na cadeia de transmissão. Em búfalos, a brucelose parece ser similar a dos bovinos. Os reservatórios naturais, representados pelos ungulados silvestres, desempenham papel importante na epidemiologia da doença, pois funcionam como mantenedores do agente no ambiente não modificado pelo homem (ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD, 1986).

A infecção pela *B. abortus* naturalmente adquirida pode ocorrer nos cães associadas aos bovinos infectados. Embora os cães das propriedades não sejam geralmente considerados os principais reservatórios da *B. abortus* o microorganismo foi isolado dos cães em uma propriedade onde vários bovinos eram sorologicamente positivos para a brucelose, devendo assim ser incluídos em qualquer investigação e programa de erradicação da doença (RADOSTITIS., *et al* 1994).

2.3 Patogenia

As brucelas entram no organismo hospedeiro pelas mucosas do trato digestivo, mucosa genital, nasal, conjuntiva ocular ou por soluções de continuidade da pele. A principal porta de entrada para os bovinos é a mucosa orofaríngea (BISHOP *et al.*, 1994).

Em seguida, são fagocitadas principalmente pelos macrófagos e carreadas até os linfonodos regionais, onde se multiplicam e podem permanecer por semanas a meses (BATHKER, 1988).

Após esta multiplicação inicial, ganham a corrente sanguínea por meio do duto torácico, dentro dos macrófagos ou livres no plasma. Vários períodos de bacteremia podem ocorrer. A partir da circulação difundem-se para os tecidos do hospedeiro, colonizando principalmente órgãos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, quais sejam, baço, fígado e linfonodos, principalmente os supra mamários, onde podem acarretar alterações inflamatórias

e anátomo- patológicas caracterizadas por granulomas difusos levando à esplenomegalia, hepatomegalia e, às vezes, hiperplasia linfóide (BISHOP *et al* ., 1994).

Os órgãos de predileção são aqueles em que há maior disponibilidade de elementos necessários para seu metabolismo, como o eritritol um álcool polihídricos de quatro carbonos, que está presente no útero gravídico, tecidos mamários e ósteo articulares e órgãos do sistema reprodutor masculino (CARTER, 1991).

A partir do quinto mês de gestação, a concentração do eritritol eleva-se atingindo níveis máximos próximos ao parto, estimulando a multiplicação da bactéria de forma crescente (BISHOP., *et al* 1994).

Na fêmea a infecção deixa de ser latente geralmente no terço final da gestação, quando o tecido corion-alantoideano esta bem desenvolvido a há disponibilidade dos metabólitos. Neste período a multiplicação da brucela é intensa e as endotoxinas liberadas após a sua destruição(CARTER, 1991) geram lesões na placenta, principalmente, no tecido córion-alantoideano, levando a processo inflamatório dos tecidos e órgãos, causando placentite necrótica dos cotilédones, resultando no seu deslocamento pela lise de suas vilosidades(GRASSO-PAULIN, 2000).

Essas lesões comprometem a circulação materno-fetal, prejudicando sua respiração e alimentação, podendo levá-lo a morte.Nos casos agudos da doença, quanto maior a necrose, maior a chance de ocorrer abortamento, único sintoma aparente nas maiorias das infecções brucélicas (BATHKER, 1988). Por outro lado quanto menos intensa a necrose maior será a deposição de fibrina e mais tardio o abortamento. Neste caso, pode ocorrer retenção de placenta, ou a gestação vir a termo, porém gerando produtos fracos que poderão morrer em alguns dias. O quadro pode evoluir para metrite ou endometrite crônica e conseqüente subfertilidade, infertilidade ou esterilidade(TIMONEY, 1988). Com ou sem a presença de corrimento vaginal (ACHA & SZYFRES 1986).

2.4 Sinais Clínicos

Os sintomas predominantes em vacas gestantes são o aborto ou o nascimento de animais mortos ou fracos. Geralmente o aborto ocorre na segunda metade da gestação, causando retenção de placenta, metrite e, ocasionalmente, esterilidade permanente. É estimado que a

brucelose cause perdas de 20%- 25% na produção leiteira, devido aos problemas de fertilidade (RIET CORREA., 2006).

O período de incubação tem uma duração variável. Em geral, esta situada entre 14 a 180 dias. Também tem sido assinalados 193-251 dias até o aborto como expressão visível de que foi produzida a infecção. Após o aborto, ocorre, frequentemente uma retenção das membranas fetais; sempre existe fluxo, acumulando-se uma secreção frequentemente cinza ou vermelho-pardo e, às vezes, fétida, que é excretada em intervalos ao pressionar (BEER, 1988).

No aparelho reprodutivo masculino, a brucela pode levar à reação inflamatória do tipo necrosante nas vesículas seminais, testículos e epidídimos, com aumento do seu volume uni ou bilateral, provocando subfertilidade, infertilidade ou esterilidade. Como seqüela pode haver atrofia do órgão afetado (ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD, 1986).

No aparelho locomotor, causa infecções articulares causando bursites, principalmente nas articulações carpianas e tarsianas e espondilites, especialmente nas vértebras torácicas e lombares, podendo também atingir medula óssea e bainha dos tendões. Em eqüídeos, o principal sinal é um abscesso localizado nas regiões da sernelha, ou da espinha da escápula e que é comumente chamado de “ mal de sernelha” (BATHKE, 1988).

Em eqüídeos também podem ocorrer osteoartrites, tenosinovites, abortamentos e esterilidade (TIMONEY *et at.*, 1988).

No homem a brucelose não está associada a sintomas característicos. Na fase aguda são descritos fraqueza, mal estar, dores musculares e variação de temperatura de forma ondulante, similares aos de uma gripe forte. A forma crônica é predominante. A sintomatologia mais freqüente é neuro-psíquica: melancolia, irritabilidade, prostração, cefaléia, inapetência, hipertensão, dispnéia, etc. (RIET CORREA., 2006).

2.5 Diagnóstico

A evolução lenta, assintomática no principio da doença no animal exige um diagnóstico moderado e seguro como condição prévia importante para a tomada de medidas de erradicação e saneamento definitivas (BEER, 1988).

A confirmação da ocorrência da enfermidade é realizada em laboratórios por meio de métodos de diagnósticos, nos quais se objetiva o isolamento e a identificação do agente etiológico a partir de material do animal suspeito. O material desses animais devem coletado por técnicos e enviados, sob refrigeração, ao laboratório para ser processado. Apesar de

dispendioso e lento, esses métodos são inequívocos e, sempre que possível, devem ser os métodos de eleição contra *B. abortus* e constituem a alternativa mais usual para o diagnóstico da brucelose bovina (BRASIL, 2006).

O diagnóstico laboratorial é dividido em métodos diretos e indiretos. O método direto baseia-se no isolamento do agente a partir de tecidos dos fetos abortados, placenta, exudatos vaginais, gânglios, leite e sêmen, os métodos indiretos ou sorológicos consistem na detecção de anticorpos no soro, no leite, no plasma seminal ou no muco vaginal, e são mais utilizados (POESTER, 1997).

O exame bacteriológico é executado a partir de espécimes suspeitos semeados em meios de culturas especiais. Uma vez isolada, a brucela, que é uma bactéria intracelular facultativa, é identificada até gênero estudando-se suas características culturais, tintoriais, morfológicas e bioquímicas (BATHKE, *et al.*, 1988).

Em meio sólido e condições ideais, uma cultura leva de três a sete dias para a visualização das colônias, embora se recomende a incubação por no mínimo três semanas (CARTER, 1991).

O diagnóstico direto também pode ser realizado por meio da técnica de reação em cadeia e polimerase (PCR) (BRASIL, 2001).

Existem diversas provas sorológicas para o diagnóstico da brucelose, no entanto nenhuma é absolutamente precisa. Ademais, existem níveis variáveis de sensibilidade e de especificidade, isso quando se comparam os resultados das provas sorológicas com os obtidos por diagnóstico direto (BRASIL, 2006).

A maioria dos testes sorológicos não apresenta umas sensibilidades absolutas, devendo-se normalmente, associar várias técnicas para aumentar o número de animais detectados. Animais recentemente infectados ou com infecção crônica pode não ser detectados por essas técnicas. Animais recentemente vacinados ou vacinados tardiamente, bem como aqueles infectados com bactérias contendo antígenos semelhantes aos da *Brucella abortus* (*Yersinia enterocolitica* 09, *Escherichia coli* O157, O116, *Salmonella*) podem ser detectados pela sorologia (COSTA, 1998).

Os principais testes, para brucelose, são os que buscam detectar anticorpos no soro e no leite são eles: Soroaglutinação Lenta em Tubos (SLT) ou prova de Wright, Teste do Antígeno Acidificado Tamponado (TAAT), Teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME), Reação de Fixação do Complemento (RFC), Testes imunoenzimáticos (ELISA), Teste da Polarização da

Fluorescência(TPF), Prova do Anel do Leite (PAL), Sêmen Plasma Aglutnação (SPA) (BRASIL, 2001).

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose(PNCEBT) implantado no Brasil, em 10 de janeiro de 2001, preconiza o TAAT e o PAL como prova de triagem e como provas confirmatórias o 2-ME e a RFC (BRASIL,2001).

O diagnóstico sorológico não deve ser realizado entre duas e quatro semanas antes e após o parto ou aborto, pois ocorrerá um significativo aumento dos resultados falso-negativos. Este incremento deve-se provavelmente, à mobilização de anticorpos para o colostro e também para os líquidos fetais (POESTER *et al.*, 1998).

2.6 Transmissão

A brucelose é transmitida através da ingestão, penetração da pele e da conjuntiva intactas. O microorganismo não se multiplica no meio ambiente, porém, persiste meramente a sua viabilidade do microorganismo fora do hospedeiro que é influenciada pelas condições ambientais. A pastagem sobre o pasto infectado ou o consumo de outros alimentos e dos suprimentos de água contaminados pelos corrimentos e pelas membranas fetais das vacas infectadas, bem como o contato com os fetos abortados e bezerros recém-nascidos infectados são os modos mais comuns de disseminação (RADOSTITIS *et al*, 1994).

O risco proposto aos animais suscetíveis após o parto das vacas infectadas depende de três fatores: o número de microorganismos excretados; sobrevivência desses microorganismos sob as condições ambientais existentes; probabilidade de os animais suscetíveis serem expostos a microorganismos suficientes para estabelecer a infecção (RADOSTITIS *et al*, 1994).

As vacas são mais susceptíveis a doença, sobretudo, quando prenhes e quase todas permanecerão cronicamente infectadas, com o agente presente no útero e linfonos (BISHOP *et al.*, 1994).

Touros também possuem papel importante na transmissão da brucelose, pois eliminam a bactéria através do sêmen o que não deve ocorrer com novilhos e animais castrados, vacas não gestantes expostas a pequenas quantidades de brucelas podem desenvolver a condição de portadora assintomática (ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD, 1986).

Entre os bovinos, a bactéria é eliminada do animal infectado pelas descargas uterinas, leite, sêmen e fezes (BATHKE, 1988). No momento do parto ou abortamento da vaca

infectada, com a expulsão do feto e anexos, há eliminação de grande quantidade de brucelas, contaminando o ambiente e propiciando a infecção de animais suscetíveis. No leite, a eliminação do agente começa cerca de duas semanas após o parto ou abortamento e pode persistir durante meses (ACHA & SZYFRES, 1986).

Embora haja risco de transmissão venérea da brucelose do touro para a vaca através da monta natural, considera-se que seja baixo e pouco importante devido às barreiras existentes na mucosa vaginal (ORGANIZACION MUNDIL DE LA SALUD, 1986).

Para os animais, as vias de transmissão são representadas principalmente por pastagens, alimentos e águas contaminadas com brucelas e também fômites ou sêmen contaminados (ACHA & SZYFRES, 1986).

A transmissão ao homem pode dever-se ao contacto direto com animais doentes como, por exemplo, no transporte de recém nascidos infectados que nasceram no campo podendo haver uma transmissão através da pele, ao levar as mãos aos olhos, tecidos conjuntivos, ingestão de leite e queijo contaminados, que não sofreram pasteurização; manipulação dos produtos animais como a lã, o leite, queijo (MAFRA, 2006).

2.7 Controle

É difícil de estabelecer estratégias de controle ou erradicação para a brucelose bovina, pois os procedimentos a serem adotados variam, podendo se encontrar rebanhos com animais positivos por causa da infecção natural, ou rebanhos não infectados que apresentam reações positivas por causa dos anticorpos vacinais, ou reações cruzadas com outros microorganismos, principalmente *Yersinia enterocolitica*. Entretanto, alguns pontos são muitos importantes, como a adoção de técnicas de diagnóstico viáveis e eficientes, cooperação e esforço conjunto entre médicos veterinários e laboratórios de diagnóstico, registros precisos do rebanho nas propriedades, educação dos pecuaristas e da comunidade, estabelecimento de medidas de manejo da enfermidade, controle do movimento de animais na propriedade, eliminação permanente dos animais infectados, controle do sêmen a ser utilizado na inseminação artificial e vacinação das fêmeas entre três e oito meses de idade, como principal medida (CAVALLERO, 1998).

A vacinação com a B19 tem como principal fundamento a proteção dos animais sadios que vivem em ambiente contaminado, propiciando que os animais infectados sejam eliminados gradativamente. A vacinação não pode erradicar a brucelose mais pode ser um

ponto de partida para tal objetivo. A erradicação requer que o animal infectado seja identificado pela sorologia, considerado como uma fonte de infecção e eliminado do rebanho (BRASIL, 2001).

Com o controle e a erradicação da brucelose, aumenta-se o ciclo produtivo da pecuária bovina, além da credibilidade da qualidade do produto final, gerando uma maior aceitação pelos consumidores do mercado interno e externo, incrementando a lucratividade da pecuária bovina brasileira (BRASIL, 2001).

O controle e a prevenção da brucelose bovina passa por um cumprimento da higiene nos locais de produção e transformação; uma política de luta contra a brucelose; medidas sanitárias e/ou médicas. No entanto todas estas medidas não poderão ser realmente eficazes sem uma educação sanitária e uma formação e mobilização de profissionais preocupados com o assunto (GARIN-BASTUJI, 1993).

2.8 Importância em saúde pública

No que se refere a da saúde pública, a doença apresenta conseqüências mais ou menos graves de acordo com a região em causa como, por exemplo, a incapacidade temporária para o trabalho por períodos relativamente longos (15 a 90 dias), a imposição de tratamentos médicos prolongados e onerosos, a recuperação lenta e, muitas vezes, inacessível acompanhada das inevitáveis e penosas seqüelas nos sistema locomotor e nos equilíbrios psíquico e psicológico dos doentes (LOUZÃ, 1993).

Trata-se de uma zoonose que acarreta diversos prejuízos econômicos e por apresentar-se como uma doença infecciosa e facilmente transmissível ao homem, de caráter persistente, de muito difícil tratamento, controle e erradicação a brucelose torna-se um problema grave de saúde pública (MAFRA, 2006).

As regiões onde existe maior prevalência desta doença são normalmente regiões onde o componente rural faz parte da vida da maioria das pessoas e simultaneamente, onde a contaminação de animais não é ainda controlada ocorrendo, conseqüentemente, a transmissão e a infecção ao homem (MAFRA, 2006).

3. Objetivos

Determinar a soroprevalência de brucelose bovina em vacas leiteiras da cidade Soledade, estado da Paraíba.

Verificar uma possível associação entre o sexo dos animais e a soropositividade para brucelose.

4. Material e Métodos

4.1 Animais

Foram utilizadas vacas leiteiras oriundas da cidade de Soledade, Estado da Paraíba, que fornecem leite para COAPECAL (cooperativa de leite do cariri) localizada no município de Caturité, Estado da Paraíba, bem como os machos reprodutores das respectivas propriedades.

4.2 Amostragem

Para o cálculo do número de animais a serem utilizados, foram considerados os seguintes parâmetros: (a) prevalência esperada; (b) erro absoluto; e (c) nível de confiança. O cálculo foi feito com a fórmula para amostras simples aleatórias (THRUSFIELD, 1995):

$$n = \frac{Z^2 \times p(1-p)}{d^2}$$

onde:

$Z = 1,96$ (nível de confiança de 95%)

$p =$ prevalência esperada de 50% (maximização de amostra)

$d =$ erro absoluto de 6%

O número de animais a serem utilizados foi de 267 . Por motivo de segurança, foi colhido sangue de 371 animais, totalizando 18 machos e 353 fêmeas.

4.3 Colheita de sangue

O sangue foi colhido em tubos de ensaio nas primeiras horas do dia antes da ordenha matinal nas respectivas propriedades, realizada com o animal contido diretamente a veia jugular. Em seguida as amostras foram encaminhadas ao Laboratório LABIVET (Sala de imunodiagnóstico de brucelose bovina), localizado na cidade de Catureté, estado da Paraíba, onde foram centrifugadas com retração do coágulo e obtenção do soro. Os soros sangüíneos

dos animais foram estocados em microtubos de polipropileno previamente identificados e mantidos congelados a -20°C até o momento da realização das provas sorológicas.

4.4 Diagnóstico sorológico

O teste utilizado foi o do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), sendo este uma prova de triagem, rápido, prático de alta sensibilidade. (VASCONCELOS et al., 1987). Devido nenhuma amostra ter reagido ao teste não foi necessária a utilização de provas confirmatórias como o 2-mercaptoetanol nem tão pouco o teste de soroaglutinação lenta.

4.4.1 Prova do Antígeno Acidificado Tamponado

4.4.1.1 Materiais utilizados

Os materiais usados foram: antígeno para AAT, que consiste numa suspensão de *B. abortus* amostra 1119-3 inativada, corado pelo rosa de bengala e diluída a 8% em solução-tampão de pH ácido (3,65); soro sanguíneo; micropipetador de 30 microlitros; ponteiras; placas com delimitações de 4 cm; misturadores de plástico; caixa com luz indireta.

4.4.1.2 Metodologia do teste

1. Os soros e o antígeno foram equilibrados à temperatura ambiente por 30 minutos. Os soros foram homogeneizados antes da realização da prova.

2. Foi utilizado o micropipetador de 30 µl para dispensar essa quantidade de soro por área da placa de vidro, encostando nela a ponta da pipeta em ângulo de 45°.

3. O antígeno foi suavemente agitado e colocado 30 µl ao lado do soro, sem ser nele misturado.

4. Em seguida misturou-se, por meio de um misturador de plástico, o soro e o antígeno com movimentos circulares, de modo a obter um círculo aproximado de 2 cm.

5. Promoveu-se movimentos oscilatórios contínuos na placa durante quatro minutos, para permitir que a mistura soro-antígeno flua lentamente dentro de cada círculo.

6. A placa foi colocada na caixa de luz indireta para realização da leitura.

Os soros não apresentaram reação visível de aglutinação (grumos), sendo desnecessária a utilização de testes confirmatórios.

Tabela 1: Prevalência de anticorpos anti-*brucella abortus* em bovinos leiteiro da cidade de Soledade, Estado da Paraíba, no período de março a maio de 2007, amostras coletadas do gado leiteiro que fornece leite para COAPECAL (cooperativa de leite do cariri) localizada no município de Caturité, Estado da Paraíba, bem como os machos reprodutores das respectivas propriedades.

Sexo	AAT		
	N°	%	I.C.95%
Macho	18	0	0
Fêmea	153	0	0
Total	371	0	0

5. RESULTADOS E DISCURSÃO

No ato da colheita de sangue nas propriedades na cidade e Soledade, no Estado da Paraíba, tornou-se possível separar os animais apenas pelo sexo, pois não havia registros oficiais dos proprietários nos dados existentes e de suas propriedades devidamente cadastrados na cooperativa de leite CARIRI. Porém, é importante ressaltar que não foi observado nenhum animal marcado com “V”, deixando acreditar que não foi coletado sangue de animais vacinados, pois de acordo com o Art. 7º, § 1º da Legislação do PNCEBT do MAPA a marcação com um “V” no lado esquerdo da cara de fêmeas vacinadas de 3 a 8 meses é obrigatória (BRASIL, 2006). Dessa forma, foi possível apenas a separação do sexo, com o intuito de separar rapidamente o leite das fêmeas e retirar do rebanho os machos contaminados com a *B. abortus*.

No município de Soledade, Estado da Paraíba não houve resultados positivos, porém, não se deve deixar de realizar as medidas de combate e controle a essa zoonose ao contrário do que aconteceu no município de Patos, Estado da Paraíba onde segundo (LEITE, 2008) onde 2,2% dos bovinos coletados reagiram soropositivamente ao teste de triagem pois os animais coletados eram oriundo de lugares sem nenhuma fiscalização. E segundo (SANTOS, 2002) que realizou uma amostragem no município de Andralina, Estado de São Paulo, onde no rebanho analisado aproximadamente 5 % do rebanho estudado reagiu soropositivamente para a Brucelose Bovina.

Na prova do Ácido Acidificado Tamponado, dos 371 bovinos analisados, nenhum reagiu positivamente, totalizando 100% dos animais testados (Tabela 1). Uma vez que era a segundo monitoramento do médico veterinário responsável Milano Sales de Melo e na primeira vez que foi coletado amostras dessas mesmas propriedades foram encontrados 16 animais que reagiram positivamente ao teste AAT e o órgão responsável a, Defesa Sanitária Animal, já havia tomado as medidas cabíveis abatendo esses animais.

Mesmo com esse resultado sabe-se que a brucelose bovina está presente no Estado da Paraíba, visto isso é necessário à conscientização para o problema de saúde animal. Somente

haverá um controle e erradicação desta enfermidade, quando houver subsídios do governo e trabalho efetivos das autoridades da Defesa Sanitária Animal como em países desenvolvidos.

6. CONCLUSÃO

Diante dos resultados não foi possível analisar a prevalência nem tão pouco a possível relação de soropositividade da brucelose com sexo dos animais.

Nas amostras sangüíneas coletadas de bovinos leiteiros da cidade de Soledade, no Estado da Paraíba, não foram encontrados resultados positivos para brucelose, contudo é necessário que haja um processo de conscientização dos profissionais que entram em contato direto com os animais, esclarecendo a importância de medidas de biosegurança, tendo em vista que a doença é de caráter ocupacional.

É importante que se realize as medidas preconizadas pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), principalmente a vacinação de fêmeas entre 3 e 8 meses de idade, com intuito de que a brucelose seja erradicada do país, para que a sociedade possa consumir produtos seguros do ponto de vista sanitário.

Para alcançar os resultados esperados esse trabalho deve atingir os diferentes segmentos da sociedade, através de realização de palestras nas comunidades e escolas da rede rural para que a população desde cedo tenha conhecimento da doença e suas conseqüências, bem como das medidas de controle para evitar a disseminação dessa zoonose no rebanho da região.

Contudo é de suma importância que haja a fiscalização bem como as medidas de controle tanto dos órgãos responsáveis como dos proprietários das regiões onde a pecuária é a principal renda.

7. REFÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ACHA, P.; SZYFRES, B. Brucelosis In: ACHA, P.N., SZYFRES, B. (editors). **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales** (Publicación Científica 503). Washington: Organización Panamericana da La Salud, p. 14-35, 1986.

BATHKE, W. Brucellosis. In: BEER, J. (Editor). **Doenças infecciosas em animais domésticos: doenças causadas por vírus, clamídias, rickettsiose, micoplasmose**. Roca: São Paulo, v. 2, p. 144-160, 1988.

BEER, J. Doenças Infecciosas em animais Domésticos. São Paulo: Livraria Roca Ltda, 1988, 380p.

BISHOP, G. C.; BOSMAN, P. P., HERR, S. Bovine brucellosis. In: COETZER, J. A. N.; THOMSOM, G. R.; TUSTIN, R. C. (Editors). **Infectious diseases of Livestock**, v. 2, Texas A&M University Press, college Station, Austin, p.1053-1066, 1994.

BRASIL. Ministerio da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Departamento de Defesa Animal. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT). Inquérito soropidemiológico da brucelose- Manual de procedimentos**. Brasília, 2001b.20p.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária – Departamento de saúde animal. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT). Manual Técnico**. Brasília, 2006. 184p.

CARTER, G.R. & CHENGAPPA, M.M. Brucella. In: CARTER, G. R. & CHENGAPPA, (Eds.). *Essentials of Veterinary bacteriology and mycology*. 4.ed. Philadelphia: London, 1991. p196-201.

CAVALLERO, J.C.M. Enfermidades causadoras de aborto: brucelose. In: LEMOS, R.A.A. ***Principais enfermidades de bovinos de corte do Mato Grosso do Sul : reconhecimento e diagnóstico***. Campo Grande: UFMS, 1998. p.408-441.

COSTA, M. Brucelose bovina e eqüina. In: CORREA, F. R, SCHAILD, A.L., MENDEZ, M.D.C ***Doença de ruminantes e eqüino***. Pelos: Ed. Universitária/ UFPel. 1998. 651p.

GARIN-BASTUJI, B. 1993. *Le Point Veterinaire*. Nº 152. 19-20.

GRASSO-PAULIN, L. M. S. *O combate à brucelose bovina*. São Paulo: 2000. 112p. [Dissertação (mestrado)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Univ. de São Paulo].

LOUZÃ, A.C.1993 *Medicina Veterinária*. 23-27.

LEITE, J. M. **Soroprevalência de Brucelose em Bivinos abatidos no Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba** [Soroprevalence of brucellosis in bovine slaughtered in the public Slaughterhouse of Patos city, state of Paraíba]. 2008 35p. Monografia (Conclusão do Curso de Medicina Veterinaria) – Universidade Federal de Campina Grande- UFCG. Patos,2008.

MAFRA, P. Impacto da Brucelose no Ambiente e Saúde Pública, **Estratégias de Controle em Zonas Endêmicas**: p. 9, 2006.

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD, *Comité mixto FAO/OMS de expertos en brucelosis.*, Ginebra: OMS, 1986. 149p. (Serie de informes tecnicos,740).

POESTER, F. P.; RAMOS, E. T.; THIESEN, S. V. Application of enzyme linked-immunosorbent assay for the diagnosis of bovine brucellosis in Rio Grande do Sul- Brasil. *Internacional Atomic Energy Agency*, Vienna, IAEA- TECDOC-1055 , p. 63-68, 1998.

RADOSTITS, O.M.; BLOOND, D.C.; GAY, C. C. *Veterinary medicine*. 8. ed. London: Baliere Tindall, 1994. 1736p.

RIET-CORREA F., SHILD, A. L. ., MÉNDEZ, M. C., LEMOS R. A. A.; **Doenças de Ruminantes e Eqüinos**, Ed. Varela, v.1, 2006. p 425.

SANTOS, J. F., Contribuição ao Controle de Tuberculose e Brucelose no Município de Andralina-SP. Ciên. Agr. Saúde. FEA, Andralina, v.2, n.1, jan-jun,2002, p38-43.

TIMONEY, J. F.; GILLESPIE, J. H.; SCOTT, F. W.; BARLOUGH, J. E. The genus brucella
In: TIMONEY, J. F.; GILLESPIE, J. H.; SCOTT, F. W.; BARLOUGH, J. E. **Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals**. Comstock Publishing Associates, London, p. 135-152, 1998.

