

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

MONOGRAFIA

Pesquisa de anticorpos anti-brucelas lisas em suínos abatidos no matadouro público
de Patos, Estado da Paraíba

Robério Macêdo de Oliveira

2009



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

MONOGRAFIA

Pesquisa de anticorpos anti-brucelas lisas em suínos abatidos no matadouro público
de Patos, Estado da Paraíba

Robério Macêdo de Oliveira
Graduando

Dr. Sérgio Santos de Azevedo
Orientador

Patos
Setembro de 2009

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

Robério Macêdo de Oliveira
Graduando

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

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

BANCA EXAMINADORA:

Assinatura

Dr. Sérgio Santos de Azevedo

Dr. Clebert José Alves

Dr. Edísio Oliveira de Azevedo

Dedico este trabalho:

*Aos meus pais, Rubens Macêdo e Luzia Macêdo, pela
Dedicação, pelos ensinamentos de coragem e acima de tudo
Humildade e incentivo nesta minha caminhada.*

*A minha esposa, Meire Macêdo pela
Paciência, lealdade e companheirismo e por
ser meu grande alicerce na minha vida.*

AGRADEÇO

A Deus, por tudo e pelos momentos de superação em minha vida, onde ele sempre esteve do meu lado. Agradeço as oportunidades de aprendizado e sabedoria que sempre encontrei em suas palavras bíblicas, e por todo o aproveitamento que tive prometo ser um profissional ético, prudente e um homem de fé.

Aos meus pais, Rubens Macêdo e Luza Macêdo e a minha esposa Meire Macêdo, que com muito amor e dedicação muito me incentivaram.

Aos meus avós paternos, Leonel do Carmo e Judith (in memoriam).

Aos meus avós maternos, Luis Lucena (in memoriam) e Lourdes Calvacanti.

Ao meu orientador, professor Dr. Sérgio Santos de Azevedo por sua dedicação ensinamentos e paciência.

Aos professores, Edísio e Clebert por aceitarem o meu convite de ser meus examinadores e admiração pela sua coerência e ética profissional.

Aos meus amigos, Silvano, Euclides e Marlon pelas horas de descontração nesses anos e as minhas amigas, Werona e Marizete pelas palavras de carinho.

Ao meu diretor, professor e grande amigo Paulo Bastos e sua esposa Jaqueline e seu querido filho Paulo Filho.

Aos meus sogros, Antônio Gustavo e Maria Alvaro.

Aos meus vizinhos e amigos, Júlio e Aldinéia por sua amizade.

Aos meus sobrinhos, Victor e Higor e as minhas sobrinhas, Geovanna, Estefane, Daiane, Thais e Ellen pela descontração de nossas brincadeiras.

“Seja sempre otimista diante do presente e do futuro. O pessimista coloca diante de seus olhos um filtro que o impede de ver a ação de Deus na humanidade. O otimista confia que, em meio à maior dor, surgirá um bálsamo capaz de convertê-la em mistério de vida e de realizações”.

Robério Macêdo

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.....	14
2.5 Diagnóstico.....	16
2.6 Transmissão.....	16
2.7 Controle.....	17
2.8 Importância em Saúde Pública.....	18
3. OBJETIVO.....	19
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4.1 Animais.....	20
4.2 Amostragem.....	20
4.3 Colheita de sangue.....	21
4.4 Diagnóstico Sorológico.....	21
4.5 Prova do Antígeno Acidificado Tamponado.....	21
4.4.1.1 Materiais utilizados.....	21
4.4.1.2 Metodologia do teste.....	22
4.4.2 Prova do 2-Mercaptoetanol.....	22
4.4.2.1 Materiais utilizados.....	22
4.4.2.2 Metodologia do teste.....	23
4.5 Análise Estatística.....	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
6 CONCLUSÃO.....	28
7. REFERÊNCIAS.....	29

LISTA DE TABELAS

Pág.

Tabela 1 - Soroprevalência e intervalo de confiança de 95%, nos testes do Antígeno Acidificado Tamponado e 2-Mercaptoetanol com relação ao sexo, em suínos abatidos no Matadouro Público de Patos, no período de fevereiro a junho de 2007..... **26**

Tabela 2 - Tabela 2- Título de anticorpos anti- Brucelas lisas na prova do 2-Mercaptoetanol, nas amostras positivas no teste de triagem, em suínos abatidos no Matadouro público de Patos, Estado da Paraíba, no período de fevereiro a junho de 2007. Patos- PB, 2008.....**26**

RESUMO

OLIVEIRA, ROBÉRIO MACÊDO. **Pesquisa de anticorpos anti-brucelas lisas em suínos abatidos no matadouro público de Patos, Estado da Paraíba** [Research of anti-smooth *Brucella* in swine slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State]. 2009 31 p. Monografia (Conclusão do curso de Medicina Veterinária)- Universidade Federal de Campina Grande- UFCG. Patos, 2009.

Foi determinada a soroprevalência de brucelose em suínos abatidos no Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba. Para tanto, foram colhidas 306 amostras de soro no período de fevereiro a junho de 2007. Para o diagnóstico sorológico da brucelose suína, foi utilizado o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) como prova de triagem e o teste do 2-mercaptoetanol como prova confirmatória. Na prova do Antígeno Acidificado Tamponado, dos 306 suínos analisados, três foram soropositivos (0,98%; IC 95% = 0,20% - 2,84%). Dos 124 suínos machos, um (0,81%; IC 95% = 0,02% - 4,41%) foi soropositivo, enquanto duas (1,10%; IC 95% = 0,13% - 3,91%) das 182 fêmeas foram soropositivas. Na prova do 2-mercaptoetanol, das três amostras reagentes no AAT, duas (0,65%; IC 95% = 0,08% - 2,34%) foram confirmadas como positivas. Todas as amostras positivas no 2ME foram de fêmeas, no entanto, não foi observada diferença significativa na proporção de soropositivos entre machos e fêmeas ($p = 0,516$)

Palavras-chave: Brucelose animal, soroprevalência, suínos, abate.

ABSTRACT

OLIVEIRA, ROBÉRIO MACÊDO. **Research of anti-smooth *Brucella* in swine slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State** [Pesquisa de anticorpos anti-brucelas lisas em suínos abatidos no matadouro público de Patos, Estado da Paraíba] 2009 31 p. Monografia (Conclusão do curso de Medicina Veterinária)- Universidade Federal de Campina Grande- UFCG. Patos, 2009.

The seroprevalence of brucellosis was determined in swine slaughtered in the public slaughterhouse of Patos, State of Paraíba. For this purpose, 306 serum samples were collected from February to June 2007. For serological diagnosis of swine brucellosis the Rose Bengal test (RBT) was carried out as screening test and the 2-mercaptoethanol test as confirmatory test. In the RBT, of the 306 pigs tested, three tested positive (0.98%, 95% = 0.20% - 2.84%). Of the 124 male pigs, one (0.81%, 95% = 0.02% - 4.41%) was positive, and two (1.10%, 95% = 0.13% - 3.91%) of the 182 females were positive. Two samples (0.65%, 95% = 0.08% - 2.34%) were confirmed as positive at the 2-ME test. All samples positive at the 2-ME were females, however, there was no significant difference in the proportion of seropositive between males and females ($p = 0.516$)

Key words: Animal brucellosis, seroprevalence, pigs, slaughter

1 INTRODUÇÃO

Segundo a *Food and Agriculture Organization* (FAO), Organização Mundial da Saúde (OMS) e do Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) a brucelose é uma das zoonoses mais importantes e difundidas no mundo (POESTER et al., 2002). Na agricultura familiar, cada animal doente, além de representar prejuízo econômico pela queda na produtividade, também significa risco para a saúde dos demais animais, e de humanos, em se tratando de zoonose (LAU et al., 1997). A brucelose é uma doença infecto-contagiosa crônica de potencial zoonótico e de distribuição mundial, causada por bactérias intracelulares facultativas pertencentes ao gênero *Brucella* (MOLNÁR et al., 2007).

A brucelose suína é uma doença infecciosa de evolução preferencialmente crônica, provocada pela *Brucella suis* (biovar 1, 2 e 3) e que é caracterizada, nas porcas gestantes por transtornos da reprodução, incluindo o aborto e, nos varrões, por orquite e epididimite, assim como por inflamações articulares (BEER, 1988). A doença causa enormes prejuízos à suinocultura, tais como queda na produção de leitões e eliminação de animais de alto valor zootécnico.

Embora a brucelose dos suínos possa ser produzida pela *Brucella abortus*, notadamente em propriedades onde se verifica uma existência promíscua entre suínos e bovinos, a grande maioria das ocorrências é devida a *B. suis* e, dentro desta espécie, o biovar 1 é aquele que se apresenta como o principal responsável, sendo pouco significativas as assinalações de variantes atípicas (GIORGE et al., 1972).

No homem é de caráter ocupacional e, os indivíduos mais expostos são os que trabalham diretamente com animais infectados como tratadores, proprietários, veterinários ou com produtos de origem animal como mangarefes, laboratoristas (ACHA; SZYFRES, 2001).

Por se tratar de uma doença mundialmente conhecida está incluída na lista de doenças da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), sendo de notificação obrigatória, considerada de importância sócio-econômica e/ou de saúde pública, ocasionando impacto significativo no comércio internacional de animais e de seus subprodutos (OIE, 2005).

O abate clandestino de suínos, uma prática condenável que ocorre no País, representa um dos mais graves fatores de risco, pela exposição coletiva a agentes infecciosos, como aqueles que

são transmitidos ao homem pelo contato com animais, pela ingestão de alimentos de qualidade sanitária suspeita e pela contaminação do meio ambiente. Contudo, apesar das evidências que têm sido apontadas, o abate clandestino tem sido negligenciado como fator de risco na ocorrência da brucelose zoonótica. (FREITAS et al., 2000).

Dessa maneira, é de fundamental importância para um país a implantação de um programa eficaz de controle de erradicação da brucelose, tanto do ponto de vista comercial quanto no tocante a saúde pública.

No Brasil foi instituído Programa Nacional de Sanidade Suídea (PNSS) com a Instrução Normativa nº 47 de 18 de junho de 2004, e publicado no Diário Oficial da União de 23 de junho de 2004, que têm como objetivo a coordenação, normatização e o suporte das ações de defesa sanitária animal referentes à suinocultura nacional, visando preservar a sanidade do rebanho suídeo brasileiro. Todas as granjas de suídeos que comercializam ou distribuem animais para reprodução, sejam elas granjas núcleos ou multiplicadoras, são monitoradas semestralmente para brucelose, no caso de não utilizar vacina. Para que essas granjas possam vender ou distribuir seus animais elas devem estar livres das doenças monitoradas. Levantamentos sorológicos realizados nos plantéis de reprodutores em algumas regiões do Brasil e nas Granjas Reprodutores Suídeos Certificada (GRSC) apontam que a brucelose suína não se constitui em um problema sanitário na suinocultura tecnificada. (BRASIL 2006).

As principais enfermidades presentes na lista que afetam os suínos são a peste suína clássica (PSC), a doença de Aujeszky (DA), a peste suína africana (PSA), a doença vesicular dos suínos (DVS), a triquinelose, a síndrome respiratória e reprodutiva suína (PRRS), a brucelose suína, a gastroenterite transmissível (TGE) e a estomatite vesicular (EV). Para a certificação de uma granja é necessário que esta atenda às condições estabelecidas na legislação, que inclui fatores relacionados à biossegurança e à sanidade dos rebanhos. São necessários dois exames negativos para as seguintes doenças: PSC, DA, brucelose, tuberculose, leptospirose e sarna, com intervalo de 2 a 3 meses. A partir de então, é feito o monitoramento para essas doenças semestralmente, com exceção da sarna, em que os exames são realizados a cada 3 meses. As granjas já certificadas que não cumprirem integralmente as condições acima mencionadas perderão a condição de GRSC (BRASIL 2006).

2.1 Agente Etiológico

As brucelas são bastonetes curtos ou cocobacilos, Gram negativas aeróbias, imóveis, não formadora de esporos e nem possuem cápsula. (RIET-CORREA et al., 2007).

O agente etiológico da brucelose em suínos é a *B. suis*. A *B. suis* é sub-dividida em 5 biovars, sendo o suíno, hospedeiro mais freqüente para os biovars 1 e 3. Outras espécies como *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. canis* e *B. neotomae* podem infectar suínos por períodos curtos, mas não há evidência de que sejam capazes de provocar transtornos reprodutivos. Geralmente, a infecção por aquelas espécies é assintomática, localizada nos gânglios linfáticos, regionais ao ponto de entrada. Alguns desinfetantes inativam as brucelas em poucos minutos (entre eles, o cloreto de mercúrio a 1/1000, lisol a 1% e formol a 2%) (SOBESTIANSKY et al., 1999).

2.2 Hospedeiros

Além de suínos sexualmente maduros, os leitões e os porcos de recria podem também ser infectados, se bem que destes últimos somente costumam sofrer a infecção de forma subclínica e transitória, apesar de com uma longa permanência no organismo. Bovinos, equinos e caninos, assim como as aves e diversas espécies de animais silvestres apresentam uma certa receptividade para a *B. suis*.

A presença de anticorpos contra *B. suis* e o isolamento do agente em queixadas, catetos e javalis foram relatados por diversos autores. Por ser a *Brucella spp* uma bactéria generalista quanto a seus hospedeiros, a vigilância epidemiológica desses animais é de extrema importância. Acredita-se que tanto os queixadas quanto os catetos sejam reservatórios naturais da brucelose e responsáveis pela transmissão da doença para animais domésticos (CUBAS et al., 2007).

No Brasil, já foi relatada a ocorrência de brucelose equina causada por *B. abortus* e por *B. suis* (RIET-CORREA et al., 2007). Os bovinos e os equinos podem ser infectados, especialmente se compartilharem um pasto com os suínos selvagens, e essa associação afeta, de modo adverso, a

condição dos rebanhos bovinos abrangidos pelos programas de erradicação da brucelose. O biovar tipo 1 foi isolado do sêmem de um carneiro. A infecção nos cães, normalmente assintomática, mas que ocasionalmente produz orquite ou epididimite, pode resultar da alimentação com carne suína crua. (RADOSTITS et al., 2003).

Por último, devemos ressaltar a receptividade do homem. Depois da *B. melitensis*, ocupa um segundo lugar a *B. suis*, no que diz respeito à patogenicidade para a espécie humana, na qual pode provocar graves transtornos (tratadores de gado, veterinários, pessoal de matadouro) (BEER, 1988).

2.3 Patogenia

Em todas as espécies de animais, inclusive no homem, as porta de entrada do agente são: a pele e as mucosas digestória e conjuntiva, sendo a principal, a mucosa orofaríngea (RADOSTITS et al., 1994).

Independente da porta de entrada, as brucelas penetram no epitélio da mucosa e são transportadas aos gânglios linfáticos regionais (SOBESTIANSKY et al., 1999). Após exposição, as brucelas penetram em superfícies mucosas intactas. No sistema digestivo, o local preferido para a entrada é o epitélio que recobre as placas de Peyer do íleo. Após penetrar nas barreiras mucosas, os organismos podem ser englobados por células fagocitárias. Receptores específicos nos macrófagos parecem mediar fixação e apreensão de *Brucella*. Vários mecanismos são utilizados pelas brucelas para permitir sua sobrevivência no interior das células fagocitárias. Elas são capazes de sobreviver e multiplicar-se dentro dos macrófagos inibindo a fusão do fagolisossoma. (HIRSH; ZEE, 1999).

Segundo SOBESTIANSKY et al., (1999) após a penetração no organismo, há invasão nos gânglios linfáticos regionais e bacteremia intermitente por várias semanas, geralmente sem sintomas. Em continuidade, ocorre a localização no tecido linfóide, fígado, baço, rins, articulações e órgãos reprodutivos. Os gânglios mandibulares, gastro-hepáticos, ilíacos internos e retrofaríngeos são as principais fontes de *Brucella suis* em suínos.

As inflamações dos órgãos são convertidas em processos necróticos e fusões purulentas. Apresentam-se disseminados em pequenos focos, especialmente nos genitais; por isso fala-se em

brucelose miliar. Também podem apresentar-se grandes focos, os chamados brucelomas (BEER, 1988).

Há localização preferencial pelo trato reprodutivo de animais gestantes. Fatores desconhecidos no útero gravídico, conjuntamente denominados fatores do líquido alantóico, estimulam o crescimento de *Brucella*. O eritrol, um álcool de quatro carbonos, é considerado um desses fatores (HIESH; ZEE, 1999).

Em geral, a bacteremia ocorre de uma a sete semanas após a infecção (média de duas semanas) e persiste em torno de cinco semanas. Tem sido observada bacteremia intermitente em suínos, ocorrendo durante uma semana ou até 34 meses. A invasão das bactérias nos fetos pode causar aborto. A infecção nos machos pode persistir por toda a vida (SOBESTIANSKY et al., 1999).

2.4 Sinais Clínicos

Os achados clínicos na brucelose suína variam amplamente, dependendo sobretudo do sítio de localização. Os sinais não são diagnosticados e em muitos rebanhos, uma alta incidência de reagentes é observada com pouca evidência clínica da doença. A ineficiência reprodutiva é manifestação comum (RADOSTITS et al., 2003).

Porcas infectadas pelo macho durante a cobertura sofrem aborto, em média, aos 35 dias de gestação. Muitas vezes a infecção não é aparente, principalmente, quando ocorre na fase inicial da gestação. Nesse caso o único sinal de brucelose no rebanho é o grande número de porcas retornando ao cio entre cinco a oito semana após a cobertura. Quando a infecção na porca ocorrer próximo ao final do 2º mês de gestação e início do 3º, geralmente ocorre aborto (SOBESTIANSKY et al., 1999).

Segundo HAFEZ; HAFEZ (2004) os principais acometimentos nos suínos são: fetos natimortos, mortalidade embrionária, falha de concepção, abortamento e infertilidade.

Nas porcas ocorrem infertilidade, estro irregular, ninhadas pequenas e abortamento. A incidência de abortamentos varia amplamente entre os rebanhos, mas normalmente é baixa (clínica

veterinária). Os principais sintomas clínicos são as freqüentes ausências de atividades nas porcas prenhes, o que no princípio, costuma ser atribuído a deficiências alimentares, manifestações carenciais. O aborto apresenta-se com as mesmas manifestações do parto normal (tumefação e hiperemia da vulva, fluxo vaginal, aumento de volume mamário) Os envoltórios fetais aparecem hiperêmicos, recobertos de sangue e, às vezes, com revestimentos diversos; além disso, estão em vias de desintegração (BEER, 1988).

Leitoas não gestantes podem desenvolver endometrite quando infectadas por *Brucella suis*. Muitas vezes não ocorrem sintomas, apenas irregularidade no ciclo estral. Mais tarde, por ocasião da cobertura, podem apresentar baixa concepção. As articulações podem estar alteradas em ambos os sexos, podendo ocorrer paralisia posterior e manqueira (SOBESTIANSKY et al., 1999).

Em machos, orquite e epididimite são os sinais clínicos mais comuns. Em geral, as lesões são unilaterais, mas podem ser bilaterais. Exame de sêmem revela aumento nos números de neutrófilos em casos agudos (HIRSH; ZEE, 1999). Orquite com edema e necrose de um ou ambos os testículos é acompanhada por esterilidade. Claudicação, incoordenação e paralisia posterior ocorrem comumente de forma moderada. O início é gradual, e os sinais podem ser causados pela artrite ou, mais comumente, pela osteomielite das vértebras lombares e sacrais (RADOSTITS et al., 2003).

Os machos podem permanecer infectados por vários anos, e aqueles que apresentarem infecção nos órgãos genitais são disseminadores da brucelose. Eles podem permanecer portadores, assim como, aquelas fêmeas que apresentarem descargas vulvares com eliminação de *brucella suis* (SOBESTIANSKY et al., 1999). Cachaços que excretam brucelas no sêmem podem ser clinicamente normais ou apresentar anormalidades testiculares. Esterilidade associada pode ser temporária ou permanente (QUINN et al., 2005). Pode ser registrada a regressão da inflamação com simultânea recuperação da libido no varrão (BEER, 1988).

Leitões na fase de amamentação e desmamados, geralmente, apresentam espondilite, associada à paralisia dos membros posteriores, quando infectados. Estes sinais podem ser observados em suínos de qualquer idade (SOBESTIANSKY et al., 1999). Uma alta mortalidade nos leitões durante o primeiro mês de vida é, algumas vezes, encontrada, mas a maior parte da perda dos leitões resulta de natimortos e do óbito de leitões fracos dentro de algumas horas do nascimento (RADOSTITS et al., 2003). Os fetos e leitões exibem revestimentos cinzas ou avermelhados e, em determinadas ocasiões, aparecem mumificados ou macerados (BEER, 1988).

2.5 Diagnóstico

O teste diagnóstico ideal seria aquele na qual a sensibilidade e a especificidade fossem 100%, ou seja, não existiria erro em seu resultado. Entretanto na prática, isso não é possível (MEDRONHO et al., 2003). O diagnóstico de brucelose pode ser feito tanto pela pesquisa da bactéria (diagnóstico direto) como pela pesquisa da resposta imunológica á infecção (diagnóstico indireto). Em decorrência de maior praticidade, menor custo e menor tempo para a obtenção do diagnóstico, a pesquisa de anticorpos é o procedimento de escolha para a rotina de diagnóstico (RIET-CORREA et al., 2007).

Como produtos de investigação para o isolamento do agente estão indicados: os fetos abortados, porções de secundinas, muco vaginal, secreção loquial, tecido testicular, esperma, líquido articular, leite ou secreção mamária, assim como diversas partes colhidas da necropsia (gânglios linfáticos, tecido mamário etc.) (BEER, 1988).

Foram desenvolvidos testes de ELISA indireto e competitivo para a diagnóstico de brucelose suína em nível individual e de rebanho, no entanto, até o presente momento, não há *kits* disponíveis no mercado. Os testes do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), polarização da fluorescência e reação de fixação de complemento são recomendados no caso de comércio internacional de suínos e o procedimento dos mesmos segue aquele recomendado para bovinos, com a utilização da *B. abortus* como antígeno (OIE, 2009).

2.6 TRANSMISSÃO

As brucelas são disseminadas por contato direto ou indireto com animais infectados. Ingestão é a via de transmissão mais comum, embora ocorra exposição por meio das mucosas genital e conjuntival, da pele e das vias respiratórias (HIRSH; ZEE, 1999). Contrariamente ao que acontece nos bovinos, suínos em monta natural é uma modalidade comum e importante de transmissão da infecção. Em muitas ocasiões, tem sido demonstrado que a infecção foi introduzida em um rebanho pela compra de um suíno infectado.

Segundo HIRSH; ZEE (1999), insetos podem desempenhar um papel secundário na transmissão e manutenção de infecção no rebanho. Foi demonstrado que moscas-do-chifre transportam e excretam *Brucella* nas fezes.

2.7 Controle

O controle da brucelose é mais eficiente quando são sacrificados todos os suínos da granja infectada. Feita a desinfecção e após um vazio sanitário, procede-se à reposição com suínos saudáveis. Essas medidas são especialmente indicadas em granjas com alta prevalência de brucelose, ou em países onde essa ocorre raramente. Após o despovoamento é aconselhada uma espera de pelo menos três meses antes da introdução de novos suínos. (SOBESTIANSKY et al., 1999).

Os testes sorológicos existentes podem ser usados para atestar os rebanhos livres da infecção, que podem, em seguida, fornecer os animais para reposição. Os programas de repovoamento também podem utilizar os suínos livres de patógenos específicos (RADOSTITS et al., 2002). Programas de controle por imunização não são usados para brucelose suína (HIRSH; ZEE, 1999)

Os programas de ação de testes e abate são a principal medida de controle em países onde a doença é exótica (QUINN et al., 2005). Em territórios ou países mais ou menos afetados endemicamente, a erradicação somente pode ser conseguida depois de medidas de saneamento de vários anos de duração, dirigidas e controladas oficialmente.(BEER, 1988).

Em áreas endêmicas, o uso de testes sorológicos a cada seis meses com eliminação dos positivos, tem dado bons resultados em rebanhos com índice mínimo de reagentes. Reprodutores que venham a ser introduzidos na granja, devem ser submetidos à quarentena, durante a mesma, deve-se realizar testes sorológicos (SOBESTIANSKY et al., 1999).

2.8 Importância em Saúde Pública

O homem é infectado pelo contato com animais ou indiretamente através da ingestão de produtos de origem animal, bem como pela inalação de aerossóis infecciosos. A importância relativa do modo de transmissão e as portas de entrada do agente variam de acordo com a área de epidemiologia, reservatórios animais e os grupos ocupacionais de risco (SZYFRES, 2001).

Em seres humanos, o período de incubação da brucelose varia de uma a cinco semanas, podendo estender-se por meses. Pode apresentar-se na forma aguda ou crônica. A fase aguda é caracterizada por febre intermitente e contínua, dores musculares e abdominais, artrite e cafaléia; já na fase crônica observa-se irritabilidade e depressão, podendo haver complicações como endocardite, miocardite, pericardite, meningite, hepatite e abscessos viscerais (AZEVEDO, 2006).

O homem é sensível às infecções por *B melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* e *B. canis*, sendo esta ordem decrescente de grau de patogenicidade para o ser humano (MAFRA, 2006).

Um estudo realizado por SPINOLA ; COSTA (1972) um fato que despertou a atenção do foi que um dos matadouros, que possuía maior efetivo de trabalhadores (n = 124) e melhores condições de trabalho, apresentou cerca de 9,67% de indivíduos com sorologia positiva. Dos cinco matadouros examinados, apenas este fazia além do abate de bovinos também o de suínos.

3 OBJETIVO

Considerando a inexistência de dados acerca da brucelose suína no Estado da Paraíba, bem como a possibilidade transmissão do agente aos seres humanos, principalmente aqueles expostos ao risco de infecção, o objetivo do presente trabalho foi determinar a prevalência de anticorpos anti-brucelas lisas em suínos abatidos no matadouro público de Patos, Estado da Paraíba.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados suínos abatidos no matadouro público de Patos, Estado da Paraíba, no período de fevereiro a junho de 2007.

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 306 animais, totalizando 124 machos e 182 fêmeas.

4.3 Colheita de sangue

O sangue foi colhido em tubos de ensaio no momento da sangria, realizada com o animal em decúbito lateral esquerdo ou direito, logo após a insensibilização. Em seguida as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em Patos, PB, onde foram centrifugadas com retração do coágulo e obtenção do soro. Os soros sanguíneos 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 do Antígeno acidificado Tamponado (AAT) foi utilizado como prova de triagem e os soros que reagiram positivamente no mesmo foram submetidos à prova confirmatória do 2-mercaptoetanol (2-ME) (OSÓRIO, 2004).

4.4.1 Prova do Antígeno Acidificado Tamponado

4.4.1.1 Materiais utilizados

Os materiais utilizados foram: antígeno para AAT, que consiste numa suspensão de *Brucella abortus* amostra 1119-3 inativada, corado pelo rosa de bengala de 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

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

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

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

- 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 2cm.

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

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

O soro que apresentou reação visível de aglutinação (grumos) em qualquer intensidade foram considerados reagentes e encaminhados para o teste confirmatório (ARAÚJO et al., 2001).

4.4.2 Prova do 2-Mercaptoetanol

4.4.2.1 Materiais utilizados

Para a realização das provas de SLT e do 2-ME, as quais são feitas em paralelo, designada como provas em série, foram utilizados: antígeno para a soroaglutinação lenta em tubo; o 2-Mercaptoetanol; uma solução salina 0,85% e fenicada 0,5%; as amostras de soro a testar (positivas para o AAT); soro controle positivo; soro controle negativo; tubos de ensaio; grade para tubos; pipeta de Bang; pipetas de 10ml; caixa com luz indireta para leitura; estufa a 37°C; vidraria para diluição dos reagentes.

4.4.2.2 Metodologia do teste

- Diluiu-se o antígeno para soroaglutinação lenta em tubos 100 vezes em solução salina a 0,85% contendo 0,5% de fenol. Concentração final 0,045%.

- Diluiu-se o antígeno para soro aglutinação lenta em tubos 50 vezes em solução salina a 0,85% sem adição de fenol. Com concentração final 0,090%.

- Preparou-se a solução de 2-ME a 0,1 M misturando-se 7,8 ml de 2-ME a 992,20 ml de solução salina a 0,85% sem fenol, ou volumes menores, proporcionalmente.

- Para cada amostra de soro a testar, colocou-se em uma estante, duas fileiras de quatro tubos.

- Identificou-se o primeiro tubo de cada fileira com o número correspondente ao soro a testar.

- A primeira fileira correspondente às quatro diluições do soro do teste de soroaglutinação lenta em tubos foi marcada com a letra T. A outra fileira, em que se fez o teste do 2-ME, foi marcada com a letra M.

- Com a pipeta de Bang carregou-se o soro até passar um pouco da graduação superior. Com um papel absorvente, limpo-se o extremo da pipeta mantendo-se esta em posição vertical sobre a parede do tubo que contém a amostra, deixa-se escorrer o soro até que o fundo do menisco no interior da pipeta esteja nivelado com a sua graduação superior.

- Com a pipeta no fundo do primeiro tubo da primeira fileira, deixou-se fluir 0,08 ml de soro. No segundo tubo, depositou-se 0,04 ml, no terceiro 0,02 ml e no quarto 0,01 ml.

- Repetiu-se o procedimento descrito para depositar as mesmas quantidades de soro na segunda fileira de tubos, na série do 2-ME.

- Em todas as amostras de soro, repetiu-se o procedimento de forma similar, pipetando os soros para cada duas fileiras de tubos adequadamente identificados.

- Foram incluídos os soro controle positivo e negativo.

- Com a pipeta de 10 ml agregou-se a cada um dos tubos das fileiras T, 2ml do antígeno diluído 1:100 em solução salina fenicada.

- Com a pipeta de 10 ml, foi agregado 1 ml de solução de 2-ME (diluído em solução salina sem fenol) a cada um dos tubos das fileiras M.

- Agitou-se a estante para misturar as soluções.

- Deixou-se as estantes com amostras em repouso durante 30 minutos à temperatura ambiente.

- Após isso, com a pipeta de 10 ml foi agregado a cada tubo da fileira M, 1 ml do antígeno diluído 1:50 em solução salina sem fenol.

- Misturou-se agitando a estante,

- As misturas foram colocadas em estufa a 37°C por 48 horas.

- As fontes de luz estranhas foram reduzidas para a leitura do teste por meio de uma fonte de luz indireta.

A interpretação da prova de soro aglutinação lenta e do 2-ME pode ser classificada como completa, incompleta ou negativa. A reação completa é quando o líquido da mistura soro-antígeno aparece translúcido e a agitação suave não rompe os grumos; a reação incompleta é aquela em que a mistura soro-antígeno aparece parcialmente translúcida, e uma suave agitação não rompe os grumos; já a reação negativa é aquela onde a mistura soro-antígeno aparece opaca ou turva, e uma agitação suave não revela grumos. Animais com títulos maiores ou iguais a 25 foram considerados positivos, de acordo com a interpretação da técnica para bovinos (BRASIL, 2006).

4.5 Análise Estatística

Para a verificação de uma possível associação entre sexo dos animais e soropositividade para brucelose, foi utilizado o teste exato de Fisher (ZAR, 1999), com nível de significância de 5%. Para a análise, foi utilizado o programa EpiInfo versão 6.04.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ato da colheita de sangue foi impossível separar os animais por idade e/ou procedência, pois não havia registros oficiais dos proprietários nem de suas propriedades.

Na prova do Antígeno Acidificado Tamponado, dos 306 suínos analisados, três foram soropositivos (0,98%; 0,20% - 2,84%) (Tabela 1). Dos 124 machos um (0,81%; 0,02% - 4,41%) foi soropositivo, enquanto duas (1,10%; 0,13% - 3,91%) das 182 fêmeas foram soropositivas.

Na prova do 2-mercaptoetanol, das três amostras reagentes no AAT, duas (0,65%; 0,08% - 2,34%) foram confirmadas como positivas (Tabela 1). Todas as amostras positivas no 2ME foram de fêmeas, no entanto, não foi observada diferença significativa na proporção de soropositivos entre machos e fêmeas ($p = 0,516$). Na tabela 2 são apresentados os títulos de anticorpos de anti- *Brucella* na prova do 2-ME das amostras positivas no teste.

Em um estudo conduzido por MATOS et al. (2004) no Estado de Goiás, de um total de 4.279 fêmeas em produção, foram colhidas 829 amostras de sangue, por meio de punção da veia cava cranial, e a ocorrência de anticorpos para *Brucella* sp foi determinada com o emprego do Card Test. Das 40 granjas envolvidas no estudo, em apenas uma (2,5%), o soro sanguíneo de um animal foi positivo, confirmando que na produção tecnificada e com um rigoroso esquema de sanidade a brucelose suína não é um problema para a suinocultura, em contrapartida um estudo realizado por (ROXO et al. 1996), na região sul de São Paulo em uma propriedade que tinha várias espécies de animais criadas em conjunto e uma criação sem os devidos cuidados de sanidade de um total de 42 amostras de soro de suíno 37 reagiram positivamente, com uma frequência de 88,09%.

Uma pesquisa feita em Rondônia na região de Monte Negro em propriedades com fins para a agricultura familiar, (AGUIAR et al 2006), testou 104 soros para a pesquisa de anticorpos anti-*Brucella* sp. e apenas um (0,9%) reagiu frente ao AAT. Entretanto, esta amostra não reagiu nos testes de SAL e 2-ME.

FREITAS et al (2001) em Belém do Pará, analisaram 139 amostras de soros de animais (suínos) de diversas procedências com as provas do “Card Test” (teste de triagem) e a soroprecipitação rápida (teste confirmatório), e observaram que 42,2% dos animais apresentaram anticorpos para *Brucella* sp.

Tabela 1. Soroprevalência e intervalo de confiança de 95%, nos testes do Antígeno Acidificado Tamponado e 2-Mercaptoetanol com relação ao sexo, em suínos abatidos no Matadouro Público de Patos, no período de fevereiro a junho de 2007.

Sexo	AAT			2-ME		
	N	Prev. (%)	IC 95(%%)	N	Prev. (%)	IC 95(%%)
Macho	1/124	0,81	0,02 – 4,41	0/124	0	0,00 – 2,93
Fêmea	2/182	1,10	0,13 – 3,91	2/182	1,10	0,13 – 3,91
Total	3/306	0,98	0,20 – 2,84	2/306	0,65	0,08 – 2,34

Tabela 2. Título de anticorpos anti- Brucelas lisas na prova do 2-Mercaptoetanol, nas amostras positivas no teste de triagem, em suínos abatidos no Matadouro público de Patos, Estado da Paraíba, no período de fevereiro a junho de 2007. Patos- PB, 2008.

Amostra	Prova do 2-ME (UI/ml)
F 172	200
F 176	25
M 83	Negativo

F: fêmea; M: macho

Foram detectadas apenas fêmeas verdadeiramente positivas, ou seja, aquelas que foram positivas tanto no teste de triagem como no confirmatório. Não foram observados quaisquer sinais clínicos ou lesões característicos da infecção, o que não significa dizer que esses animais não estão liberando a bactéria constantemente, deixando em alerta os profissionais em contato com esses animais, como mangarefes e médicos veterinários, visto que esses indivíduos são susceptíveis a essa doença nessas circunstâncias de abate.

Apesar do teste do 2-ME não ser padronizado para o uso no diagnóstico da brucelose suína, há um forte indício de que suínos positivos na mesma estejam realmente infectados em decorrência das elevadas sensibilidade e especificidade dos testes em série empregados (AAT e 2-ME), em torno 95% e 99,5%, respectivamente (AZEVEDO, 2006). Os resultados obtidos no presente trabalho levantam preocupações, pois suínos soropositivos para a brucelose estão sendo encaminhados para abate, expondo os mangarefes ao risco ocupacional.

Dessa forma, é importante a adoção de algumas medidas preventivas, como o uso de luvas para manejar esses animais, bem como outras medidas de biossegurança necessárias. Além disso, é necessário que haja um trabalho comunitário de esclarecimento para proprietários, tratadores e mangarefes, bem como para lideranças de comunidades, agentes de saúde animal e consumidores.

Apesar da infecção de suínos por *B. abortus* ser considerada ocasional, há a possibilidade dos animais reagentes no presente trabalho serem positivos para essa espécie, pois pode haver reação cruzada nos testes empregados. Dessa maneira, essa hipótese levanta preocupações com relação ao Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), uma vez que suínos infectados por *B. abortus* podem eliminar o agente e expor bovinos ao risco de infecção, comprometendo, assim, o sucesso do programa.

6 CONCLUSÃO

Foram encontrados suínos abatidos no Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba, soropositivos para brucelas lisas, o que levanta preocupações do ponto de vista de saúde pública por se tratar de uma importante zoonose, expondo os mangarefes ao risco ocupacional. É necessário que haja um trabalho de conscientização desses profissionais, esclarecendo a importância de medidas de biossegurança bem como as conseqüências ocasionadas pela brucelose.

7 REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3. ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud/Oficina Sanitária Panamericana/Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud, 2001. v. 1, 398 p.

AGUIAR, D. M. et al., **ANTICORPOS CONTRA AGENTES BACTERIANOS E VIRAIS EM SUÍNOS DE AGRICULTURA FAMILIAR DO MUNICÍPIO DE MONTE NEGRO, RO** *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.73, n.4, p.417, out./dez., 2006.

ARAÚJO, F. R.; SOARES, C. O.; MADRUGA, C. R. Protocolos de Técnicas. In: MADRUGA, C. R. ; ARAÚJO, F. R.; SOARES, C. O. **Imunodiagnóstico em medicina veterinária**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. p. 177-341.

AZEVEDO, S. S. **Caracterização Epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Espírito Santo**. Tese apresentada ao Programa Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária. São Paulo, 2006.

BRASIL D. S. et al., **Ocorrência de Brucelose em Equinos Manejados Juntamente com Bovinos: Relato de dois casos, Universidade Federal de Goiás** Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0705-3.pdf> . Acesso em: 20 de ago. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária – Departamento de Saúde Animal. **Programa Nacional Sanidade Suídea (PNSS)**. Disponível em: www.agricultura.gov.br. Acesso em: 17 ago. 2009.

BEER, J. **Doenças em Animais Domésticos**, ED. Roca, São Paulo 1988, p. 178-183.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de Animais Selvagens**, ED. Roca, São Paulo 2007. p. 626.

FREITAS, J. A., GALINDO, G. A. R., SANTOS, E. J. C.; SARRAF, K. A.; OLIVEIRA, J. P. **Risco de brucelose zoonótica associado a suínos de abate clandestino Zoonotic brucellosis risk associated with clandestine slaughtered porks** *Faculdade de Ciências Agrárias do Pará. Belém, PA, Brasil, Rev. Saúde Pública* 2001;35(1): p.101. Disponível em: www.fsp.usp.br/rsp. Acesso em 21 ago. 2009.

GIORGE, W.; CASTRO, A. F. P.; PORTUGAL, M. A. S. C. **Tificação de amostras de *Brucella* isoladas do Estado de São Paulo, Brasil**. *Rev. Microbiologia*, v.3, p. 39-44, 1972.

HAFEZ E. S. E.; HAFEZ B. **Reprodução Animal**, 7ª ed. Manole, Barueri – SP 2004. p.272, 273

HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 1999. p. 186, 187, 191.

LAU, H.D.; TOURRAND, J.F.; VEIGA, J.B.; HOMEM, V.S.F.; SIMÃO NETO, M. Cattle health and public well being in frontier áreas of the Brazilian Amazon. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ANIMAL HYGIENE, 9., 1997, Helsink, Finlândia. *Proceedings*. Helsink, 1997. p.7.

MAFRA, P. Impacto da Brucelose no Ambiente em Saúde Pública, **Estratégias de Controle em Zonas Endêmica**.

MATOS, M. P. C.; SOBESTIANSKY, J.; PÔRTO, R. N. G.; MEIRINHOS, M. L. G., **Ocorrência de anticorpos para *Brucella sp.* em soros de matrizes suínas de granjas que abastecem o mercado consumidor de Goiânia, Estado de Goiás, Brasil**. *Ciência Animal Brasileira* v.5, n 2. p.105, abr./jun. 2004.

MEDRONHO, R. A. et al., **Epidemiologia**, Atheneu, São Paulo 2003. p. 263.

MOLNÁR, L.; MÓLNAR, E.; LIMA, E. S. C.; DIAS, H. L. T. Avaliação de seis testes sorológicos no diagnóstico da brucelose bubalina. SCIELO, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2002000200002&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 18 de Agosto de 2009.

OIE – ORGANIZAÇÃO MUDIAL DE SAÚDE ANIMAL. Terrestrial animal health code, 2005. 14. ed. Disponível em: http://www.oie.net/eng/normes/mcode/en_sommaire.htm. Acesso em: 19 Ago.2009.

OSÓRIO, A. L. A. R.; MADRUGA, C. R.; SOARES, C. O.; ARAÚJO, F. R.; JORJE, K. S. G.; MONTEIRO, L. A. R. C.; ALMEIDA, R. F. C. Editires: ALMEIDA, R. F. C.; SOARES, C. O.; ARAÚJO, F. R. **Brucelose e Tuberculose Bovina – Epidemiologia, controle e diagnostico**. Embrapa Gado de Corte. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Embrapa Informação Tecnologia. Brasília. 2002. p.94.

POESTER, F. P.; GONÇALVES, V. S. P.; LAGE, A. P. **Veterinary Microbiology - Brucellosis in Brazil**, Elsevier, 2002 55 p.

QUINN, P. J. et al., **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**, Artemed, Porto Alegre-RS 2005. p. 170.

RADOSTITS, O. M. ET AL., **Clínica Veterinária – Um Tratado de Doenças dos Bovina, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**, 9ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 2002. p. 795, 797.

RIET-CORREA, F.; SCHILD A. L.; LEMOS R. A. A.; BORGES J. R. J. **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos**, v. 1, 3ª ed. Pallotti, Santa Maria 2007. P. 225, 227, 229.

ROXO, E.; BERSANO J. G.; PORTUGAL M. A. S. C. **Brucella Suis em Diversas Espécies de Animais Numa Mesma Propriedade Rural**, Seleção de Patologia Clínica, Instituto Biológico, Arq., São Paulo, v.63,n.1, p. 11-14, jan/jun., 1996.

SOBESTIANSKY, J. et al., **Cínica e Patologia Suína**, 2ª ed. P.43, Goiânia – GO 1999. p. 43-45.

SPINOLA, A. G.; COSTA, M. D. de M. Revista Saúde Publica S ao Paulo, **BRUCELOSE HUMANA EM OPERÁRIOS DE UM FRIGORÍFICO NO MUNICÍPIO DE SALVADOR, BAHIA, BRASIL**. Revista Saúde Publica. São Paulo 1972. p.156.

THRUSFIELD, M. **Veterinary epidemiology**. 2. ed. Cambridge: Blackwell Science, 1995. 479 p.

ZAR, J. H.; **Biostatistical analysis**. 4. ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999. 663 p.