

## Investigação da soropositividade para brucelose em rebanhos caprinos produtores de leite para consumo humano

*Serologic investigation of brucellosis in goat flocks producers of milk for human consumption*

CARNEIRO, J.<sup>1</sup>; ZACHARIAS, F.<sup>2</sup>; PACHECO, S.T.<sup>3</sup>;  
MENDONÇA -LIMA, F.W.<sup>4\*</sup>

1. Estudante de Farmácia-Bioquímica, bolsista de PIBIC/FAPESB-UFBA.
2. Mestre em Medicina Veterinária Tropical-UFBA. Coord. EBDA.
3. Mestre em Medicina Veterinária Tropical-UFBA
4. Profa. Dra. de Imunologia da Fac. de Farmácia- UFBA

\*Endereço para correspondência: ferwlima@terra.com.br

### RESUMO

A Brucelose é uma antropozoonose de importância tanto para saúde pública quanto para a economia das regiões onde ocorre, devido à alta taxa de aborto e infertilidade em rebanhos infectados. O animal doente é a mais importante fonte de infecção humana, podendo essa ocorrer de forma ocupacional ou pela ingestão de produtos contaminados. A brucelose caprina, causada pela *Brucella melitensis*, é a que desenvolve maior virulência para o homem. No atual projeto investigou-se a frequência da soropositividade para brucelose em diferentes rebanhos caprinos da Bahia, onde, assim como em todo o nordeste do Brasil, a caprinocultura representa uma das principais fontes de renda e de alimento para a população. Amostras de soro de 400 caprinos provenientes de rebanhos das regiões de Amélia Rodrigues, Feira de Santana e Jaguarari, na Bahia, foram testadas pelo método de soro aglutinação direta com antígeno brucélico rosa-bengala em prova rápida para triagem, todas as amostras reagentes por esse método foram submetidas à prova lenta em tubo, sendo confirmados 03 casos sororeagentes numa região que possui poucos relatos bibliográficos de endemia para brucelose.

Palavras-chave: Brucelose, caprinos, soropositividade.

### SUMMARY

Brucellosis is an important anthroozoonosis that affects public health and the economy in the regions where it occurs, because it causes high abortion indexes and infertility in infected flocks. The diseased animal is the most important source of infection to the man. The disease can occur by occupational form or by the ingestion of contaminated products. Under the epidemiological point, caprine brucellosis is the one of the most important zoonosis, since it has a great virulence for humans. In the current project, the seroprevalence for brucellosis in different flocks of the Bahia was investigated. In Bahia and in all Northeast of Brazil, goats represent one of the main sources of income and food for the population. Serum samples from 400 goats from the cities of Amélia Rodrigues, Feira de Santana and Jaguarari had been tested. Serum samples were screened by direct agglutination method with rose Bengal *Brucella* antigen in the rapid test. Serum samples which tested positive by the direct agglutination test were also evaluated using the slow test tube, confirming three positive sera in the region, which possess few records of endemic brucellosis.

Key words: Brucellosis, caprine, seropositive

## INTRODUÇÃO

A brucelose é uma antroponose crônica disseminada por todo o mundo, causada por bactérias intracelulares facultativas do gênero *Brucella*, patogênicos para um amplo espectro de mamíferos (DIAS E SILVA et al., 1982; BATHKE, 1988; ALVES et al., 2001; POESTER et al., 2002). O animal infectado é a principal fonte de infecção para o homem e outros animais, por contato direto, forma ocupacional, ou ingestão de produtos contaminados. Dentre outras maneiras, a difusão do agente ocorre, principalmente, por eliminação nas secreções vaginais e através do leite (BATHKE, 1988; ELZER, 2002; CEZAR, 2002). Existe comprovação científica do isolamento da *Brucella spp* de amostras de leite cru de animais com sorologia reagente para brucelose e essas pesquisas sugerem que a infecção de humanos é possível através do consumo de leite e subprodutos *in natura* (BOTELHO et al., 2000; LANGONI et al., 2000; POSANO et al., 2001). Na América Latina estima-se uma perda anual de US \$25 milhões devido a brucelose, o que para uma nação em desenvolvimento pode ter conseqüências gravíssimas tanto sociais quanto econômicas (MORENO, 2002). A brucelose em humanos pode evoluir com uma série de sintomas semelhantes ao da gripe, como febre, dor de cabeça, sudorese e indisposição, além de sintomatologia neurológica atribuída a possíveis inflamações no SNC. Também pode ser causa de doenças de caráter crônico, como artrite, febre recorrente, entre outras, já que se trata de uma bactéria intracelular facultativa. (DAMIÁN et al., 1995; MADRUGA et al., 2001; ELZER, 2002). No presente

trabalho, investigou-se a soropositividade para brucelose em rebanhos caprinos da Bahia, uma vez que, em todo o nordeste, a caprinocultura representa uma das principais fontes de renda e alimento para a população, existindo poucos estudos epidemiológicos dessa antroponose no estado detentor do maior rebanho caprino do Brasil e ocupando a quarta posição em volume de leite dentre os estados brasileiros. A importância desse estudo também se fundamenta na incidência de brucelose em bovinos, de aproximadamente 12%, e no fato de existir um risco elevado da introdução de novas cepas de *Brucella* com a aquisição freqüente de cabras importadas (ZACHARIAS, 2001; COSTA, 2003; IBGE, 2003).

### Animais

Caprinos de rebanhos de diferentes regiões da Bahia, Amélia Rodrigues, Feira de Santana e Jaguarari, totalizando 400 animais de raças mestiças, foram investigados através de sorologia para brucelose. Amostras de sangue venoso foram coletadas por venopunção com auxílio de sistema coletor a vácuo, sem anti-coagulante para obtenção de soro, sendo alíquotadas, identificadas e mantidas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento dos testes.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas duas técnicas sorológicas de aglutinação, a prova rápida em placa para triagem e a aglutinação

lenta em tubos (NIELSEN, 2002; BRICKER, 2002).

Na prova rápida utilizou-se o Antígeno acidificado tamponado para diagnóstico da brucelose, produzido pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), soros controles positivo e negativo, micropipetas de 30µl, placa de vidro sulcada para reação de aglutinação e bastões finos. A execução dessa técnica consiste em deixar soros e antígeno por 30 minutos, à temperatura ambiente, antes de iniciar a prova, tomando o cuidado para não trabalhar com número grande de amostras, evitando evaporação. Prossegue-se depositando 30µl de soro em uma das cavidades da placa com pipeta inclinada num ângulo de 45 graus e, em contato com a placa, agita-se suavemente o frasco de antígeno, pipeta-se 30µl ao lado da porção do soro, com pipeta em posição vertical. Mistura-se soro e antígeno com bastão em movimentos circulares por alguns minutos e procede-se a leitura para detectar a presença de grumos de aglutinação no caso de reação reagente (MADRUGA, 2001).

Para a prova lenta utilizou-se um kit específico também produzido pela TECPAR. O material empregado é semelhante ao utilizado no método da prova rápida, acrescentando pipeta de 2,0ml e micropipetas de 80, 40, 20 e 10µl. Nesse método não devem ser utilizadas amostras de soro hemolizado. Realizou-se a técnica, assim como a interpretação dos resultados de acordo com Madruga e colaboradores (2001).

Para a análise dos dados foi utilizado o teste de Qui-quadrado seguido de análise de distribuição binomial. O nível de significância foi fixado em  $p < 0,05$  (bicaudal) para o intervalo de confiança de 95%. O menor valor esperado, calculado, após aplicação do teste de Qui-quadrado, foi de 4,7. O valor crítico para aplicação do teste Qui-quadrado é de 5. Como o valor do teste foi inferior ao valor crítico, o teste de Qui-quadrado foi substituído por uma análise de distribuição binomial. A partir dos valores estabelecidos para o nível de significância fixado, foi obtido obteve-se o valor crítico de  $Z_{0,05} = 1,96$ .

## RESULTADOS

Das 400 amostras testadas, 36 foram repetidamente reagentes na triagem, das quais 3(três) foram reagentes para brucelose com títulos relativamente altos, pelo método de aglutinação lenta.

Todas as amostras coletadas na região de Amélia Rodrigues, um total de 68, apresentaram-se não reagentes pelo método rápido. Das 44 amostras coletadas na região de Feira de Santana, seis se apresentaram reagentes pelo método rápido e, dessas, 1 (uma) confirmou-se reagente pelo método lento. Na análise das 288 amostras coletadas na região de Jaguarari, 30 se apresentaram reagentes ou fracamente reagentes pelo método rápido e, destas, 2(duas) se apresentaram reagentes pelo método lento (Tabela 1).

Tabela 1 Resultados dos testes das provas rápida e lenta da sorologia por aglutinação direta para brucelose em caprinos.

Região	Prova rápida		Prova lenta		Títulos
	Total	Positivos	Total	Positivas	
F. de Santana	44	06	06	01**	100
A. Rodrigues	68	0	0	0	
Jaguarari	288	30	30	02**	100*
					50

\*Amostras de animais diferentes que foram reagentes na triagem e que na prova lenta obtiveram títulos diferentes.

\*\*Valor crítico de  $Z_{0,05} = 4,7$  (Feira de Santana) e  $Z_{0,05} = 13,58$  (Jaguarari).

Embora as amostras das populações estudadas possuam tamanhos diferentes (cerca de 6,5 vezes maior em Feira de Santana), as proporções dos animais sorologicamente reagentes em Feira de Santana (13,64%) e em Jaguarari (10,42%) são muito semelhantes. O valor

calculado de Z igual a 4,7 em Feira de Santana e 13,58 em Jaguarari, ambos superiores ao valor crítico, possibilita a rejeição da hipótese nula, ou seja, há diferença entre as frequências de soropositividade em função do regime de criação.

## DISCUSSÃO

Embora a brucelose tenha diminuído nos últimos anos, o problema ainda não está solucionado. A realização do combate à brucelose, utilizando predominantemente ou exclusivamente a vacinação de fêmeas bovinas na idade de 3 a 8 meses, consegue uma diminuição da incidência das conseqüências nocivas, mas não a erradicação completa, por se tratar de um microrganismo resistente, que pode permanecer vivo por 3 a 4 meses em solo úmido, fezes úmidas, água parada, manteiga e membranas fetais secas e fragmentadas (CAVALCANTE, 2000). Seria necessário, aliado à vacinação, adotar medidas sanitárias, como o tratamento de esterco e acidificação ou pasteurização do leite para evitar novos casos entre os animais e impedir a veiculação dos produtos entre a

população consumidora. Meios de desinfecção comuns, como o cloreto de cal e a formalina, provocam destruição segura e rápida das *Brucellas* (POESTER et al., 2002; SCHURING et al., 2002).

Diante dos resultados alcançados, notou-se uma relação entre o tipo de criação e a ocorrência de casos positivos. Em Amélia Rodrigues, onde o modo de criação é intensivo, confinado, a soropositividade apresentada foi nula, já em Feira de Santana e Jaguarari, onde o modo de criação é semi-intensivo, algumas vezes em consórcio com bovinos e ovinos com menos cuidados de manejo e sem confinamento, foram detectadas amostras reagentes na triagem e na prova lenta. As hipóteses testadas referentes ao tipo de regime (semi-intensivo ou intensivo) permitiram a seguinte inferência: os

animais em regime semi-intensivo possuem maior chance de contrair a brucelose do que animais em regime intensivo. Constatou-se também que, independente do clima ou relevo, os animais criados em regime semi-intensivo sempre apresentavam soropositividade para a brucelose, enquanto que os animais em regime intensivo mostraram-se soronegativos. Convém ressaltar que, considerando que as diluições iniciais na prova lenta são de 1:25, as amostras confirmadamente reagentes apresentaram títulos relativamente elevados, isto é, 50 e 100, respectivamente, o que fortalece o valor diagnóstico da prova.

Existem vários métodos que podem ser utilizados para diagnóstico da brucelose. Os bacteriológicos são eficientes, mas

com grandes chances de gerar resultados falsos negativos. Os estudos a partir de amostras de urina e fezes não são apropriados, mas a investigação a partir de amostras de esperma e leite pode ser feita, sendo que as reações sorológicas para a demonstração de anticorpos no leite ou soro sanguíneo são os recursos mais utilizados no conjunto de procedimentos para o diagnóstico (NIELSEN, 2002).

Com base nos dados epidemiológicos existentes e de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, conclui-se que o índice de positividade gerado é consideravelmente elevado para regiões estudadas onde há poucos relatos dessa antroponose (VIEGAS et al., 1981).

## REFERÊNCIAS

ALVES, C. J.; BARROS, A. A.; CARVALHO, M. G. X.; ARIMATÉIA, R. A.; ASSIS, L. F. Pesquisa para aglutina anti-*Brucella* no leite "in natura", comercializado nos municípios de Patos, Pombal e Teixeira (Paraíba, Semi Arido Nordeste, Brasil). **Hig. Aliment**, v.15, n.89, p. 67-72, 2001.

BATHKE, W. Brucelose. In: BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. São Paulo: Roca, 1988. p.163-188.

BOTELHO, A. P.; MOTA, R. A.; SILVA, L. B. G. da; SANTOS FILHO, A.S.; COELHO, R. M. S.; LIMA, E. T. Recuperação de *Brucella abortus* do leite in natura procedente de vacas soropositivas dos municípios de Pedra e Venturosa- PE. **Hig. Aliment**, v.14,n.73, p.72-7, Jun. 2000.

BRICKER, BETSY J. Diagnostic strategies used for the identification of *Brucella*; **Vet. Microbiol**, v.90, p. 433-434, 2002.

CAVALCANTE, F. A. Brucelose Diagnóstico e Controle- Instruções técnicas. **Arq. Embrapa**, Acre, v. 26, p. 1-3, 2000.

CEZAR, E. **Embrapa aprova teste para detectar a brucelose**. Disponível em: <www.embrapa.br> Acesso em 13 ago. 2002.

COSTA, A. L. Verminose: normas e procedimentos para o controle. In: SEMINÁRIO NORDESTINO DE PECUÁRIA, 8., 2003, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: EMBRAPA, 2003 p. 34-49.

DAMIÁN, R. F.; RODRIGUEZ, L. R.; TOCÓN, E. S. M. Brucelosis durante el embarazo: evolución y resultados perinatales.: **Ginecol. Obstet. Méx**, v. 63, n.5, p.190-195, 1995.

DIAS E SILVA, A. E.; DIAS E SILVA, M. U.; HANSEN, D.: Brucelose ( *Brucella*

*abortus*) como possível causa de aborto, epididimoorchite em caprinos e ovinos no Ceará.: **Rev. Brás. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.6, n.1-2, p. 25-29, 1982.

ELZER, P.H; HAGIUS, S.D; DAVIS, D.S; DELVECCHIO, V.G; ENRIGHT, F.M. Characterization of the caprine model for ruminant brucellosis., **Vet. Microbiol.**, v. 90, n.1-4, p. 425-31, 2002.

#### **IBGE. Pesquisa Pecuária Municipal.**

Sistema IBGE de Recuperação Automática-SIDRA. Disponível em:<  
[www.sidra.ibge.gov.br](http://www.sidra.ibge.gov.br)> Acesso em 8 dez. 2003.

LANGONI, H.; CHIHARA, S. M.; ILVA, A. V.; ARDO, R. B.; ONIN, F. B.; MENDONÇA, L. J. A. D. Isolation of *Brucella ssp* from milk of brucellosis positive cows in São Paulo and Minas Gerais states. **Braz. J. vet. Res. Anim. Sci.**, v.37, n.6, p.444-448, 2000.

MADRUGA, C. R.; ARAÚJO, F. R.; SOARES, C. O. **Imunodiagnóstico em medicina veterinária.** Campo Grande: Embrapa, 2001, 360 p.

MORENO E . Brucellosis in Central America. **Vet Microbiol.**,v.90, n.1-4, p.31-38, 2002.

NIELSEN, K. Diagnosis of brucellosis by serology. **Vet. Microbiol.**, v. 90, p.447-459, 2002.

POESTER, F.P; GONÇALVES, V.S.; LAGE, A.P. Brucellosis in Brazil. **Vet. Microbiol.**, v.90, n.1-4, p. 55-62, 2002.

POSANO, E. H. G.; PINTO, M. F.; DELBEM, A. C. B.; LARA, J. A. F.; PERI, S. H. V. Avaliação da qualidade de amostras de leite cru comercializado no município e Araçatuba e potenciais riscos decorrentes de seu consumo. **Hig. Aliment.**, v.15, n.86, p.31-38, 2001.

SCHURING, G.G.; SRIRANGANATHAN, N.; CORBEL, M.J. Brucellosis vaccines: past, present and future **Vet. Microbiol.**, v. 90, n.1-4, p. 479-496, 2002.

VIEGAS, E. A.; CALDA, E. M.; AMORIM, R.; CAMPOS, W. G.; VIEGAS, S.; MELO, E. S.; ALMEIDA, F.S.; FREIRE, N.; SILVA, A.G. Investigação sobre a presença de aglutininas anti-bruc licas em hemo-soros, no estado da Bahia. **Arq. EMV-UFBA**, Salvador, v. 6, n.1, p.70-77, 1981.

ZACHARIAS, F. **Caprinocultura leiteira, mercado e orientaoes de manejo.** Salvador: EBDA, 2001. 80p. (EBDA Documentos).