FREQÜÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-Brucella abortus EM CAPRINOS E OVINOS DO SERTÃO DO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL

José Wilton Pinheiro Junior,¹ Marcília Maria Alves Souza,² Neurisvan Ramos Guerra,³ Vânia Lúcia de Assis Santana⁴ e Rinaldo Aparecido Mota⁵

Doutor, professor adjunto, Unidade Acadêmica de Garanhuns, UFRPE
Médica veterinária, fiscal de Defesa Agropecuária, Agência Agropecuária do Estado de Pernambuco
3. Médico veterinário, autônomo

Doutora, fiscal federal agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento
Professor associado, Departamento de Medicina Veterinária, UFRPE

RESUMO _

Objetivou-se investigar a freqüência de aglutininas anti-*Brucella abortus* em caprinos e ovinos do Sertão do Estado de Pernambuco, Brasil. Foram processadas 700 amostras de soros sangüíneos, das quais 340 eram da espécie caprina (115 machos e 225 fêmeas) e 360 (136 machos e 224 fêmeas) ovina. Empregou-se a técnica do antígeno acidificado tamponado (AAT) corado com rosa bengala (RB). Das 340 amostras de caprinos avaliadas, duas (0,6%) foram reagentes ao AAT. Não se observaram associações significativas para as variáveis faixa etária (p= 0,430), raça (p= 0,936) e sexo (p= 0,562). Das 360 amostras de ovinos, nove (2,5%) foram reagentes. Também não houve associação

significativa entre as variáveis analisadas e a soropositividade para brucelose: faixa etária (p= 0,522); raça (p= 0,576) e sexo (p= 0,461). Verificou-se associação significativa (p= 0,042) entre as espécies estudadas e soropositividade para brucelose nos animais investigados. A soropositividade para *Brucella abortus* em caprinos e ovinos foi descrita pela primeira vez no Sertão de Pernambuco, fato que pode dificultar o sucesso do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose, tendo em vista que nessa região é comum a criação consorciada de pequenos ruminantes com bovinos, além de representar riscos à Saúde Pública.

PALAVRAS-CHAVES: Brucelose, ovinos, caprinos, pequenos ruminantes, sorodiagnóstico.

ABSTRACT _

FREQUENCY OF ANTI-Brucella abortus AGGLUTININS IN GOATS AND SHEEP OF THE "SERTÃO" (BACKLANDS) OF THE STATE OF PERNAMBUCO, BRAZIL

The objective was to investigate the frequency of anti-Brucella abortus agglutinins in goats and sheep of the backlands of the State of Pernambuco, Brazil. 700 samples of sanguine serums were processed, of which 340 were of the goat (115 males and 225 females) and 360 (136 males and 224 females) sheep. The technique of the Tamponed Acidified Antigen (AAT) dyed with Bengalese Rose (BR) was used. Of the 340 samples of goat evaluated two (0.6%) were reactive to AAT. Significant associations were not observed for the variable age group (p = 0.430);

race (p = 0.936) and sex (p = 0.562). Of the 360 sheep samples, nine (2.5%) were reactive. There also was no significant association between the analyzed variables and the seropositiveness for brucellosis: age group (p = 0.522); race (p = 0.576) and sex (p = 0.461). Significant association was observed (p = 0.042) among the studied species and seropositiveness for brucellosis in the investigated animals. The seropositiveness for *Brucella abortus* in goats and sheep was traced for the first time in the "Sertão" (dry interior region, backlands) of Pernambuco, fact that can hinder the

success of the National Program of Control and Erradication of Brucellosis, due to the fact that it is common to raise small

ruminants with bovines in this area, besides representing risks to Public Health.

KEY WORDS: Brucellosis, ovines, caprines, small ruminants, serodiagnosis.

INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas e parasitárias constituem sério entrave ao desenvolvimento da caprinoovinocultura, por proporcionarem consideráveis perdas nos animais, resultando em grandes prejuízos econômicos (CALDAS et al., 1989).

A brucelose é considerada importante doença infectocontagiosa de potencial zoonótico que acomete principalmente os bovinos, caprinos e ovinos. A enfermidade em bovinos é causada principalmente por *Brucella abortus* (*B. abortus*), enquanto que em caprinos e ovinos é causada pela *Brucella mellitensis* e *Brucella ovis* (GARIN-BASTUJI et al., 1998; FERREIRA et al., 2003). A doença é transmitida para humanos mediante o contato direto com rebanhos ou consumo de produtos e derivados de origem animal contaminados (DÍAZ-APARICIO et al., 1994).

ELOY et al. (2000) citam que a brucelose caprina é causada predominantemente por *B. mellitensis*, mas existe a possibilidade de infecção pela *B. abortus*, principalmente em locais em que ocorre a criação consorciada de bovinos e de caprinos. A ocorrência de abortamentos por *B. abortus* em pequenos ruminantes é rara. Entretanto já foi evidenciada em diversos países do mundo, mediante confirmação pelo isolamento do microrganismo (OCHOLI et al., 2005).

A presença da brucelose em uma região ou país resulta em custos diretos ou indiretos para as propriedades rurais e para indústria animal, incluindo a redução no preço da carne, do leite e derivados, a desvalorização dos produtos para mercado externo e os altos custos com programas de controle e erradicação (NIELSEN, 1995). MIYASHIRO et al. (2003) assinalaram que a detecção da brucelose nos animais é essencial para a prevenção da doença em humanos.

O diagnóstico mais fidedigno da doença é firmado diante do isolamento do microrganismo

em animais suspeitos. Entretanto possui sensibilidade limitada, alto custo, dificuldade do isolamento, o que dificulta a aplicação do referido exame em grande escala para campanhas de controle. Assim, os métodos indiretos baseados em testes sorológicos são amplamente utilizados em programas de controle e erradicação da doença. Os testes do antígeno acidificado tamponado e (AAT), 2-Mercaptoetanol e fixação do complemento (FC) são os principais testes para detectar anticorpos anti-*B. abortus* e *B. mellitensis* (FERREIRA et al., 2003). O AAT é de grande utilidade como prova de triagem para ovinos e caprinos por sua elevada sensibilidade, rapidez e baixo custo (BLASCO & BAGUES, 1999).

Considerando a importância da brucelose na cadeia produtiva da caprino-ovinocultura, conciliada à escassez de dados sobre a doença no Estado de Pernambuco, objetivou-se determinar a freqüência de aglutininas anti-*Brucella abortus* em caprinos e ovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se 700 amostras de soros sangüíneos, das quais 340 da espécie caprina (115 machos e 225 fêmeas) e 360 (136 machos e 224 fêmeas) ovina, procedentes de dezenove propriedades dos municípios de Sertânia e Floresta, da região do Sertão do Estado de Pernambuco. Os caprinos pertenciam às raças Anglo-Nubiana, Boer, Moxotó, Saanen, e mestiços, enquanto que os ovinos pertenciam às raças Dorper, Santa Inês, Somalis e mestiços.

As amostras foram testadas no Laboratório Nacional Agropecuário em Pernambuco, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, utilizando-se a técnica do antígeno acidificado tamponado (AAT) modificado na proporção de 3:1 (soro/antígeno). Homogeneizaram-se 75µL de soro sangüíneo com 25µL de antígeno durante

quatro minutos. Foram consideradas reagentes as amostras que apresentaram aglutinação (FERREI-RA et al., 2003).

Submeteram-se as amostras reagentes ao AAT à prova de fixação do complemento (FC) (ALTON et al., 1988).

Para o cálculo da frequência dividiu-se o número de animais sorologicamente positivos pelo número de animais amostrados, utilizando-se análise estatística descritiva por meio de distribuições absoluta e relativa. Para o estudo da associação entre a soropositividade e as variáveis analisadas (faixa etária, raça, sexo), utilizou-se estatística inferencial pelo teste de Qui-quadrado ou teste Exato de Fisher considerando significante para valores de p < 0.05, mediante o emprego do programa EpiInfo versão 6.02 (DEAN et al., 1990).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 340 amostras de caprinos avaliadas apenas duas (0,6%) foram reagentes e 338 (99,4%) não reagentes ao AAT, corroborando com os resultados relatados por SIMÃO et al. (2004) no Rio de Janeiro, que ao analisarem 953 amostras de soros caprinos encontraram positividade de 0,2%. Entretanto, CARNEIRO et al. (2005) relataram frequência de 9,0% (36/400) de animais sororeagentes no Estado da Bahia. Estudos anteriores realizados no Nordeste do Brasil (SILVA & SIL-VA, 1983; ALVES et al., 1997) não encontraram animais soro-reagentes para B. abortus. MOURA SOBRINHO et al. (1998), utilizando a técnica de soroaglutinação rápida, detectaram 5,0% de animais soro-reagentes distribuídos na Região Metropolitana do Recife e Zona da Mata do Estado de Pernambuco.

Diferentes países têm se preocupado com a participação de *B. abortus* na casuística de abortamentos em caprinos e ovinos. DARWESH & BENKIRANE (2001), em estudo realizado no período de 1990 a 1996, observaram 2,94% de caprinos e ovinos da Syria soro-reagentes para *B. abortus*. No Egito, a prevalência em caprinos foi estimada em 4,7% (ABDEL-GHANI et al., 1983), enquanto que no Jordão estudo similar encontrou 27,7% (AL-MAJALI, 2005).

Observou-se neste estudo que 100,0% dos caprinos reagentes possuíam idade inferior a doze meses, resultado que contraria o de BOSSERAY et al. (1982). Esses autores afirmaram que a brucelose é uma doença dos animais sexualmente maduros, cujo agente causal possui predileção por placentas, fluidos fetais e sêmen. Tal fato pode ser explicado pela presença de anticorpos maternos ou maior exposição destes animais aos rebanhos bovinos.

Os caprinos reagentes 100% (2/2) eram da raça Anglo-nubiana e, em relação ao sexo, 50% (1/2) constituíam-se de machos e 50% de fêmeas. Não foi observada associação significativa entre as variáveis faixa etária (p= 0,430), raça (p= 0,936) e sexo (p= 0,562).

Das 360 amostras de ovinos analisadas, nove (2,5%) foram reagentes e 351 (97,5%) resultaram não reagentes ao AAT. Tais dados assemelhamse aos observados por OCHOLI et al. (2005) na Nigéria, que encontraram prevalência de ovinos soro-reagentes entre 1,4% a 14,5%. Já NOZAKI et al. (2004), no Brasil, analisaram 1.033 soros de ovinos provenientes da região centro-oeste do estado de São Paulo e não observaram animais reagentes, contrariamente aos resultados do presente estudo.

Analisando-se as amostras soropositivas para brucelose em ovinos, quanto ao sexo e raça, foi observado que 55,6% (5/9) eram fêmeas e 44,4% (4/9) machos, 55,6% (5/9) são mestiços, 22,2% (2/9) Santa Inês e 22,2% (2/9) Dorper. No que diz respeito à faixa etária dos animais reagentes, 44,4% (4/9) estavam abaixo de 12 meses e 66,6% (5/9) entre 13 e 24 meses. Não houve associação significativa entre a soropositividade para brucelose ovina e faixa etária (p=0.522), raça (p=0.576) ou sexo (p=0.461). Em relação ao sexo, os resultados obtidos neste estudo são contrários aos relatados na literatura, visto que ocorre predominância do macho na transmissão e distribuição da enfermidade (BURGESS et al., 1982).

Verificou-se associação significativa (*p*= 0,042) entre as espécies estudadas e soropositividade para brucelose, nos animais investigados. Segundo BATHKE (1998) e CARTER & CHE-

PANGA (1991), os ovinos são mais resistentes à *Brucella* que caprinos, mas, em ambos, pode ocorrer infecção ocasional, nos quais a epididimite e o abortamento são os principais sintomas nos ovinos e caprinos, respectivamente.

GIL TURNES (1998), ao estudar a brucelose em ovinos no Brasil, referiu que a doença está associada à infecção por *B. ovis*, além de ser amplamente difundida do Rio Grande do Sul e nos países dos quais se importam reprodutores. ES-TEIN (1999) afirma que a epididimite contagiosa, causada por *B. ovis*, constitui problema sanitário importante na Argentina, Uruguai, Chile, Peru e sul do Brasil.

Das amostras reagentes ao AAT, quando submetidas a FC, observou-se que 100% foram inconclusivas. Reações inconclusivas podem ocorrer em virtude da quantidade insuficiente de anticorpos (IgG1). Animais infectados podem ou não produzir todos os isotipos de anticorpos em quantidades detectáveis, permanecendo abaixo do limiar para diagnóstico (ZOWGHI et al., 1990)

FERREIRA et al. (2003) afirmam que a técnica modificada do AAT utilizando uma quantidade de soro em relação à quantidade de antígeno na proporção de 3:1 diminui os resultados falsosnegativos, encontrando, assim, um número maior de animais reagentes ao teste, o que também foi relatado por DÍAZ-APARICIO et al. (1994).

Para o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil, a brucelose por *B. melitensis* não ocorre no Brasil. Contudo, estudos voltados à sorologia e isolamento do agente devem ser realizados, uma vez que há a possibilidade de reações cruzadas no AAT.

CONCLUSÃO

O presente estudo descreve pela primeira vez no Sertão de Pernambuco a ocorrência de soro-reagentes para *B. abortus*, em caprinos e ovinos, fato este que gera preocupação para o sucesso do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose, uma vez que se trata de região em que são comuns as criações consorciadas de pequenos ruminantes e bovinos.

REFERÊNCIAS

ABD-EL-GHANI, M.; OSMAN, K.; NADA, S.M. Evaluation of sero-diagnostic methods for brucellosis among sheep and goats in Egypt. **International Journal Zoonosis**, v.10, p.132-137, 1983.

ACHA, P.N.; SZYFRES, B.; BRUCELOSIS. In: ACHA, P.N. (Ed.). **Zoonoses y enfermidades transmissibles communes alhombre y a los animals**. Washiton: Organización Panamericana de la Salud, 1986. p.14-35. (Publicación Cientifica 503).

AL-MAJALI, A.M. Soroepidemiology of caprine *Brucellosis* in Jordan. **Small Ruminant Research**, v. 58, p.13-18, 2005.

ALTON, G.G.; JONES, L.M.; ANGUS, R.D.; VERGER, J.M. **Techniques for the brucellosis laboratory**. Paris: INRA, 1998. 190 p.

ALVES, C.J.; VASCONCELOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; LEITE, E.A.; GOMES, A.A.B. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-*brucella* em soros de caprinos de cinco centros de criação do nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 4, n. 3, p. 89-91, 1997.

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

BLASCO, J.M.; MARÍN, C.; JIMÉNEZ DE BAGUÉS, M.; BARBERÁN, M.; HERNÁNDEZ, A.; MOLINA, L.; VELASCO, J.; DÍAZ, R.; MORIYÓN, I. Evaluation of allergic and serological tests for diagnosing *Brucella melitensis* infection in sheep. **Journal of Clinical Microbiological**, v. 32, p.1835-1840, 1994a.

BLASCO J.M.; GARIN-BASTUJI, B.; MARIN, C.M.; GERBIER, G.; FANLO, J.; JIMENEZ DE BAGUES, M.P.; CAU, C. Efficacy of different rose bengal and complement fixation antigens for the diagnosis of *Brucella melitensis* in sheep and goats. **Veterinary Record**, v.134, p. 415-420, 1994b.

BLASCO, J.M.; JIMENEZ DE BAGÜES, M.P. Diagnostico serologico. **Tratado de Patologia y Producion Ovina**, v. 8, 1990. p. 51-64.

BOSSERAY, N.; PLOMMET, M.; DE RYCKE, J. Development of *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* and *Brucella* and *Brucella suis* infection infection in mice to a chronic stage and cure. **Annual Research Veterinary**, v.13, n. 2, p.153-161, 1982.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº. 12**, de 5 fev. 2004. Brasília, 2004.

BURGESS, G.W. Epidemiological studies on ovine brucellosis in selected ram flocks. **Australian Veterinary Journal**, v. 59, p.45-47, 1982.

CALDAS, E.M.; SANTANA, A.F.; CAETANO, A.L.S. Estudo da ovinocaprinocultura na região nordeste do Estado da Bahia. **Arquivo da Escola de Medicina Veterinária**, v. 12, p. 1-98, 1989.

CARNEIRO, J.; ZACHARIAS, F.; PACHECO, S.T.; MENDONÇALIMA, F.W. Investigação da soropositividade para brucelose em rebanhos caprinos produtores de leite para consumo humano. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 6, n. 2, p. 53-58, 2005.

CARTER, G.R.; CHENGAPPA, M.M. In: CARTER, G.R.; CHENGAPPA, E. (Eds.). **Essentials of veterinary bacteriology and mycology**. 4. ed. Philadelphia: London, 1991. p.196-201.

DARWESH, M.; BENKIRANE, A. Field investigations of brucellosis in cattle and small ruminants in Syria, 1990-1996. **Revue Scientifique Technique of International Epizooites**, v. 20, n. 3, p. 769-775, 2001.

DEAN, A.G.; DEAN, J.A.; COULOMBIER, D.; BRENDEL, K.A. Version 6.2. Word processing, database and statistics program for epidemiology na microcomputers. Atlanta, Georgia, USA: Centers of Disease Control, 1990.

DÍAZ-APARICIO, E.; ARAGÓN, V.; MARÍN, C.; ALONSO, B.; FONT, M.; MORENO, E.; PÉREZ-ORTIZ, S.; BLASCO, J.N.; DÍAZ, R.; MORIYÓN, I. Comparative analysis of *Brucella* serotype A and M and *Yersinia enterocolitica* O:9 Poysasaccharides for serological diagnosis of Brucellosis in cattle, sheep and goats. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n.12, p. 3136-3141, 1993.

DÍAZ-APARICIO, E.; MARÍN, C.; ALONSO-URMENETA, B.; ARAGÓN, V.; PÉREZ-ORTIZ, S.; PARDO, M.; BLASCO, J.M.; DÍAZ, R.; MORIYÓN, I. Evaluation of serological tests for diagnosis of *Brucella melitensis* infection of goats. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, n.5, p.1159-1165, 1994.

ELOY, A.M.X.; ARAÚJO, A.M.; ALVES, F.S.F.; MOURA SOBRINHO, P.A. Testes sorológicos para brucelose caprina no estado do Ceará. EMBRAPA CAPRINOS, 1998. Comunicado Técnico.

ESTEIN, S.M. Aspectos inmunológicos en el diagnóstico y control de la epididimitis contagiosa del carnero por *Brucella ovis*. **Archive Medicine Veterinary**, v. 31, n.1, p. 5-17, 1999.

FERREIRA, A.C.; CARDOSO, R.; TRAVASSOS DIAS, I.; MARIANO, I.; BELO, A.; ROLÃO PRETO, I.; MATEIGAS, A.; PINA FONSECA, A.; CORREA DE SA, M.I. Evaluation of a modified Rose Bengal test and an indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep. **Veterinary Research**, v. 34, p. 297-305, 2003.

SIMÃO, S.A.F.; RISTOW, P.; CARDOSO, V.S.; SOUZA, G.N.; LILENBAUM, W. Ocorrência de brucelose caprina em propriedades de exploração leiteira do estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 26, n.1, p. 21-25, 2004.

GARCÍA CARRILHO, C.; CUBA CAPARÓ, A.; MYERS, D.M. Susceptibilidad comparada de cabritos y carneros a la infección causada por *Brucella ovis:* estudos serológicos, bacteriológicos y patológicos. **Gaceta Veterinária**, v. 36, p. 355-374, 1974.

GARIN-BASTUJI, B.; BLASCO, J.M.; GRAYON, M.; VERGER, J.M. *Brucella melitensis* infection in sheep: present and future. **Veterinary Research**, v. 29, p. 255-274, 1998.

GIL TURNES, C. Brucelose ovina. In: CORREA, R.F.; SCHILD, A.L.; MENDEZ, M.C. (Eds.). **Doenças de ruminantes e eqüinos**. Pelotas: Editora da Universidade Federal de Pelotas, 1998. p.161-169.

MIYASHIRO, S.; SCARCELLI, E.; CAMPOS, F.R.; DEZEN, B.; ARAÚJO, M.; GENOVEZ, M.E. Discite em humano com brucelose: confirmação e identificação da espécie por meio da reação de polimerização em cadeia (PCR). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 3, supl. 3, p. 1-4, 2003.

MOURA SOBRINHO, P.A.; MOTA, R.A.; CUNHA, E.L.P; ELOY, A.M.X. Aglutininas anti-*Brucella abortus* em caprinos do Estado de Pernambuco. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 1, n. 2, p. 109-110, 1998.

NIELSEN, K. A brief review of diagnosis of bovine brucellosis by detection of antibody. **Archive Medicine Veterinary**, v. 27, p. 9-17, 1995.

NOZAKI, C.N.; MEGID, J.; LIMA, K.C.; SILVA JÚNIOR, F.F.; VELOSO, C.S. Comparação das técnicas de imunodifusão em gel de ágar e Elisa no diagnóstico de brucelose ovina em cabanhas da região Centro-Oeste do

Estado de são Paulo. **Arquivo Instituto Biológico**, v. 71, n.1, p.1-5, 2004.

OCHOLI, R.A.; KWAGA, J.K.P.; AJOGI, I.; BALE. J.O.O. Abortion due to *Brucella abortus* in sheep in Nigeria. **Revue Scientifique Techinique off International Epizooites**, v. 24, n.3, p. 973-979, 2005.

SILVA, M.U.D.; SILVA, E.D.F. Possíveis causas de aborto em caprinos. v. 12. Comunicado Técnico. EMBRAPA

Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos, 1983. p.1-9.
Comunicado Técnico.

ZOWGHI, E.; EBADI, A.; MOHSENI, B. Isolation of *Brucella* organisms from the milk of seronegative cows. **Revue Scientifique Techinique off International Epizooites**, v. 9, n. 4, p. 1175-1178, 1990.

Protocolado em: 18 jul. 2007. Aceito em: 3 jun. 2008.