

Universidade Federal da Bahia
Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos

**INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS
CONTRA O VÍRUS DA LÍNGUA AZUL E *BRUCELLA OVIS* EM
REBANHOS OVINOS DA MICRORREGIÃO DE JUAZEIRO - BAHIA**

THIAGO SAMPAIO DE SOUZA

**Salvador – Bahia
2011**

THIAGO SAMPAIO DE SOUZA

**INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA O
VÍRUS DA LÍNGUA AZUL E *BRUCELLA OVIS* EM REBANHOS OVINOS DA
MICRORREGIÃO DE JUAZEIRO - BAHIA**

Dissertação apresentada à Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos, na área de Saúde Animal.

Orientador: Dr. Joselito Nunes Costa
Co-orientador: Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro

Salvador – Bahia
2011

SOUZA, Thiago Sampaio de.

Inquérito epidemiológico para detecção de anticorpos contra o vírus da língua azul e *Brucella ovis* em rebanhos ovinos da Microrregião de Juazeiro - Bahia / Thiago Sampaio de Souza – Salvador, 2011. 126p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, 2011.

Orientador – Prof. Dr. Joselito Nunes Costa.

Co-orientador – Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro.

Palavras-chave: Brucelose ovina, epidemiologia, IDGA, ocorrência, *Orbivirus*, sorologia.

**INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA O
VÍRUS DA LÍNGUA AZUL E *BRUCELLA OVIS* EM REBANHOS OVINOS DA
MICRORREGIÃO DE JUAZEIRO - BAHIA**

THIAGO SAMPAIO DE SOUZA

Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos.

Salvador, 03 fevereiro de 2011.

Comissão Examinadora:

Dr. Joselito Nunes Costa – MEV/UFBA
Orientador

Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro – EMBRAPA CAPRINOS E OVINOS

Dr^a. Sílvia Inês Sardi – ICS/UFBA

*Aos meus pais, pelo amor
e apoio constante na minha vida, dedico.*

AGRADECIMENTOS

Aos nossos protetores de outro plano, que nos guiam sempre pelo caminho do bem e alicerçam a nossa existência.

À minha família, pelo apoio constante. Ao meu pai, Josemário, minha mãe, Ana Tereza, meus irmãos e minhas cunhadas, Matheus e Cynthia, Lucas e Renata. Aos meus avós maternos, Jayme e Graciete e aos meus avós paternos, sempre presentes no meu coração, Jaime e Lourdes. À minha tia-avó, Maria José, pelo incentivo. Às minhas tias, tios, primos, primas e agregados.

Ao Prof. Joselito, pela confiança e orientação.

Ao Dr. Rizaldo, pela orientação e a toda a sua equipe da Embrapa Caprinos e Ovinos, em especial, a Osmarilda, Roberta e Leandro.

Ao Laboratório de Viroses do Hospital Veterinário da UFBA, em especial a Gal e ao Prof. Magnavita.

À Priscila, pela grande amizade e apoio incondicional ao meu crescimento profissional.

À Line, sempre presente nos momentos importantes.

Aos amigos que participaram das viagens a campo, em especial Byanca, Carla, Ana Carla, Fernando Laporte e Gildeni.

Ao Centro de Desenvolvimento da Pecuária (CDP) e toda a sua equipe de veterinários, Margareth, Roberto, Byanca, Carla, Juliana, Rafaela, Gabriela; funcionários, Rands, Luíza, Luzia, Tonha, Regina, Mario Jorge, Nivaldo, Cosme, Zé Bispo, Zezito, Teles, Tonho da moto, Raimundo, Aristeu; vigilantes, Robson, Alex, Naidson, Wilson Grande, Wilson Pequeno, Vando e a todos os estagiários.

Aos veterinários que passaram pelo CDP, Profa. Ana Paula, Anna Fernanda, Márcio, Moisés, Débora, Alisson, Alexandre, Lilian, Vitor.

Aos colegas do grupo de pesquisa, Vanessa, Fernando Alzamora, Ticiania e Magda.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos da UFBA, em especial à Profa. Consuelo, Kátia e Angélica.

Aos criadores de ovinos da região de Juazeiro – BA, que permitiram a realização do levantamento sorológico em seus rebanhos.

A Capes, pela concessão da bolsa de mestrado.

A Fapesb, que financiou o projeto de pesquisa desta dissertação de mestrado.

A Embrapa Caprinos e Ovinos, pela disponibilização da infraestrutura laboratorial.

A Codevasf e sua equipe de técnicos e motoristas que apoiaram as viagens a campo durante a execução do projeto.

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim”.

Chico Xavier

ÍNDICE

	Páginas
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiii
RESUMO	xv
SUMMARY	xvi
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1 Língua Azul (<i>Bluetongue</i>)	6
2.1.1 Etiologia.....	6
O vírus e seus sorotipos.....	6
A partícula viral.....	6
2.1.2 Histórico.....	7
2.1.3 Epidemiologia.....	8
Língua Azul no mundo.....	8
Relatos de casos clínicos no Brasil.....	13
Estudos sorológicos no Brasil.....	14
Hospedeiros, vírus e vetor: o ciclo de transmissão.....	18
Período de viremia e reservatórios.....	21
Fatores predisponentes.....	23
Persistência do vírus.....	26
Transmissão vertical.....	28
Transmissão venérea.....	29
2.1.4 Patogênese.....	29
2.1.5 Achados clínicos, anátomo-patológicos e histopatológicos.....	31
2.1.6 Diagnóstico diferencial.....	34
2.1.7 Diagnóstico laboratorial.....	35
2.1.8 Tratamento, controle e profilaxia.....	38

2.2 Brucelose ovina causada por <i>Brucella ovis</i>	45
2.2.1 Etiologia.....	45
2.2.2 Histórico.....	47
2.2.3 Epidemiologia.....	48
Distribuição.....	48
Transmissão.....	52
Fatores predisponentes.....	55
2.2.4 Patogênese.....	59
2.2.5 Achados clínicos.....	61
2.2.6 Achados anátomo-patológicos e histopatológicos.....	62
2.2.7 Diagnóstico diferencial.....	64
2.2.8 Diagnóstico laboratorial.....	64
2.2.9 Tratamento, controle e profilaxia.....	70
3. ARTIGO CIENTÍFICO I	74
Resumo.....	74
<i>Summary</i>	75
Introdução.....	75
Material e métodos.....	78
Resultados e discussão.....	81
Agradecimentos.....	91
Referências.....	91
4. ARTIGO CIENTÍFICO II	95
Resumo.....	95
<i>Summary</i>	96
Introdução.....	97
Material e métodos.....	99
Resultados e discussão.....	101
Agradecimentos.....	111
Referências.....	111

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	115
6. REFERÊNCIAS.....	117

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1 - Frequência de propriedades e animais positivos para língua azul em estudos conduzidos com bovinos, caprinos e ovinos em diferentes regiões do país.	15
TABELA 2 - Espécies do gênero <i>Brucella</i> e seus hospedeiros.	45
TABELA 3 - Frequência de propriedades e animais positivos para <i>Brucella ovis</i> em estudos conduzidos com rebanhos ovinos em diferentes regiões do país.	49
TABELA 4 - Detecção de anticorpos contra o vírus da língua azul no Brasil.	79
TABELA 5 - Número de amostras mínimas a serem testadas para língua azul por município da Microrregião de Juazeiro - Bahia.	80
TABELA 6 - Número de soros de ovinos testados por imunodifusão em gel de ágar para língua azul na Microrregião de Juazeiro – Bahia.	81
TABELA 7 - Número de propriedades visitadas para levantamento sorológico de língua azul em rebanhos ovinos na Microrregião de Juazeiro – Bahia.	81
TABELA 8 - Características gerais das 58 propriedades visitadas na Microrregião de Juazeiro – Bahia para levantamento sorológico de língua azul.	85
TABELA 9 - Faixa etária e sexo dos ovinos testados para língua azul na Microrregião de Juazeiro – Bahia.	89
TABELA 10 - Número de amostras mínimas a serem testadas para <i>Brucella ovis</i> por município da Microrregião de Juazeiro - Bahia.	100
TABELA 11 - Número de soros de ovinos testados por imunodifusão em gel de ágar para <i>Brucella ovis</i> na Microrregião de Juazeiro – Bahia.	101
TABELA 12 - Número de propriedades visitadas para levantamento sorológico de <i>Brucella ovis</i> em rebanhos ovinos na Microrregião de Juazeiro – Bahia.	101

TABELA 13 -	Características gerais das 58 propriedades visitadas na Microrregião de Juazeiro – Bahia para levantamento sorológico de <i>Brucella ovis</i> .	102
TABELA 14 -	Frequência de ovinos soropositivos para <i>Brucella ovis</i> , segundo o sexo, na Microrregião de Juazeiro-Bahia.	107
TABELA 15 -	Frequência de ovinos soropositivos para <i>Brucella ovis</i> , segundo a faixa etária, na Microrregião de Juazeiro-Bahia.	107
TABELA 16 -	Frequência de propriedades e animais positivos para <i>Brucella ovis</i> em estudos conduzidos com rebanhos ovinos em diferentes regiões do país.	108

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Rio São Francisco, Lago de Sobradinho e Microrregião de Juazeiro, Bahia (Região do Baixo Médio São Francisco).	2
FIGURA 2 - Esquema representativo da estrutura do vírus da língua azul com suas proteínas e segmentos de dsRNA.	7
FIGURA 3 - Mosquito <i>Culicoides</i> se alimentando de sangue.	19
FIGURA 4 - Ciclo de transmissão do vírus da língua azul.	20
FIGURA 5 - Distribuição do vírus da língua azul e dos vetores <i>Culicoides</i> .	23
FIGURA 6 - Persistência do vírus da língua azul durante o inverno.	27
FIGURA 7 - Lesões na mucosa oral provocadas por infecção pelo vírus da língua azul.	32
FIGURA 8 - Sinais clínicos de língua azul em ovino.	32
FIGURA 9 - Epididimite ovina por <i>Brucella ovis</i> .	62
FIGURA 10 - Achados de necropsia na brucelose ovina.	63
FIGURA 11 - Padrões do teste de microimunodifusão.	67
FIGURA 12 - Cálculo do percentual de sensibilidade e especificidade.	68
FIGURA 13 - Microrregião de Juazeiro – Bahia (Região do Baixo Médio São Francisco) e seus oito municípios.	78
FIGURA 14 - Resultados de inquéritos sorológicos para o vírus da língua azul realizados em diferentes regiões do Brasil.	83

LISTA DE ABREVIATURAS

BA	Bahia
<i>B. ovis</i>	<i>Brucella ovis</i>
BHK	<i>Baby Hamster Kidney</i>
CCPS	Centro de Coleta e Processamento de Sêmen
CDP	Centro de Desenvolvimento da Pecuária
CE	Ceará
cELISA	Ensaio imunoenzimático competitivo
CNPC	Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos e Ovinos
CODEVASF	Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e Parnaíba
CPFA	Centro Panamericano de Febre Aftosa
CPK	Creatina-fosfoquinase
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
Dpi	Dias pós-infecção
dsRNA	<i>Double stranded RNA</i>
EDTA	Ácido etileno diaminotetracético
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EUA	Estados Unidos da América
FAPESB	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia
FC	Fixação de complemento
G	Unidade da força centrífuga relativa
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDGA	Imunodifusão em Gel de Ágar
IgE	Imunoglobulina E
IPVDF	Instituto de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor
Km ²	Quilômetros quadrados
LA	língua azul
MADT	Teste de macroimunodifusão
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MG	Minas Gerais
MIDT	Teste de microimunodifusão
Mm	Milímetro

MV	maedi-visna
MVV	Vírus da maedi-visna
nm	Nanômetro
NS	<i>Nonstructural</i>
°C	Graus Celsius
OIE	<i>World Organisation for Animal Health</i>
PB	Paraíba
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
RNA	Ácido Ribonucléico
RS	Rio Grande do Sul
rRT-PCR	Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa em tempo real
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa
SEI	Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia
SE	Sergipe
SP	São Paulo
SRD	Sem Raça Definida
TECPAR	Instituto de Tecnologia do Paraná
TAAT	Teste do antígeno acidificado tamponado
TOV	Orbivírus Toggenburg
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VLA	Vírus da língua azul
VMRD	<i>Veterinary Medical Research and Development</i>
VP	<i>Viral protein</i>
µL	Microlitro
2-ME	2-Mercaptoetanol

SOUZA, T.S. **Inquérito epidemiológico para detecção de anticorpos contra o vírus da língua azul e *Brucella ovis* em rebanhos ovinos da Microrregião de Juazeiro - Bahia**. Salvador, Bahia, 126p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, 2011.

RESUMO

Com o objetivo de analisar a ocorrência de anticorpos contra o vírus da língua azul e *Brucella ovis* em ovinos de propriedades localizadas na Microrregião de Juazeiro, Bahia, um inquérito foi conduzido em rebanhos ovinos de oito municípios que compõem esta microrregião (Juazeiro, Casa Nova, Remanso, Campo Alegre de Lourdes, Pilão Arcado, Sento Sé, Sobradinho e Curaçá). Algumas características de manejo foram pesquisadas através da aplicação de questionários epidemiológicos. Para verificar a frequência de ovinos soropositivos para língua azul, o teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) foi utilizado para pesquisar 469 amostras de soro oriundas de 58 rebanhos. Os resultados demonstraram que 0,43% (2/469) das amostras analisadas apresentaram anticorpos contra o agente. Objetivando-se obter informações sobre a presença de *B. ovis*, o teste de IDGA foi utilizado para examinar 694 amostras de soro dos 58 rebanhos estudados. Anticorpos foram observados em 0,72% (5/694) dos animais investigados. A Microrregião de Juazeiro é caracterizada pelo clima semiárido e pela predominância do sistema de criação extensivo, com presença de animais nativos, mestiços e sem raça definida para produção de carne e pele, com baixa produtividade e tecnificação. Acredita-se que o baixo número de ovinos positivos neste inquérito esteja relacionado com as características dos sistemas de produção. Os resultados sugerem que a adoção de medidas sanitárias é necessária para prevenir a disseminação dos agentes infecciosos pelos rebanhos.

Palavras-chave: Brucelose ovina, epidemiologia, IDGA, ocorrência, *Orbivirus*, sorologia

SOUZA, T.S. **Sero-epidemiological survey for Bluetongue virus and *Brucella ovis* in sheep flocks of the semi-arid region of Bahia State, northeastern Brazil.** Salvador, Bahia, 126p. Dissertation (Master in Animal Science in the Tropics) - Veterinary Medicine School, Federal University of Bahia, 2011.

SUMMARY

In order to analyze the occurrence of antibodies to Bluetongue virus and *Brucella ovis* in sheep of properties located in the microregion of Juazeiro, Bahia State, Brazil, a survey was conducted in sheep herds in the eight cities that make up the microregion (Juazeiro, Casa Nova, Remanso, Campo Alegre de Lourdes, Pilão Arcado, Sento Sé, Sobradinho and Curaçá). Some features of management were inquired from the application of epidemiological questionnaires. To verify the frequency of sheep with positive serology for Bluetongue virus, the agar gel immunodiffusion test (AGID) was used to search 469 serum samples of 58 herds. The results demonstrated that 0,43% (2/469) of the analyzed samples presented antibodies for this agent. To obtain data about the presence of *B. ovis*, the AGID was used to examine 694 serum samples of the 58 herds. Antibodies were found in 0,72% (5/694) of the investigated animals. The microregion of Juazeiro is characterized by a semi-arid climate and the predominant management system is the extensive one, with a presence of native and crossbred animals, aiming at the production of meat and skin, with low productivity and technification. It is believed the low number of positive sheep found in this survey is related to the production systems features. The results lead to accept that the adoption of sanitary measures is necessary to prevent the spread of these infectious agents in the flocks.

Keywords: AGID, epidemiology, occurrence, *Orbivirus*, ovine brucellosis, serology

1. INTRODUÇÃO GERAL

A Região Nordeste soma 1.561.178 Km² e é composta por nove estados: Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia. Desse total, estão no chamado Polígono das Secas 1.085.187 Km², dos quais se exclui o Maranhão e se acrescentam 120.701 Km² do norte do estado de Minas Gerais, para onde se estende o clima semiárido (ARAÚJO, 2001). A zona semiárida inserida no nordeste brasileiro situa-se na parte mais ocidental do continente sulamericano. Integram-se nesta zona cerca de 900 municípios, com população de aproximadamente 17 milhões de habitantes (EMBRAPA, 2009).

A Bacia do São Francisco abrange seis estados (Minas Gerais, Bahia, Pernambuco, Sergipe, Alagoas e Goiás) e o distrito federal. Desde o século XIX, muitas têm sido as investidas para levar a água do rio para os estados do Ceará, Paraíba e Rio Grande do Norte, o que tem provocado grandes polêmicas até a atualidade. Entretanto, apenas promover o aumento da oferta de água para a solução da vida de milhões de pessoas que precisam de emprego, saúde, instrução e qualidade de vida é utópico. Se a presença da água por si só resolvesse o problema, as populações ribeirinhas do São Francisco não padeceriam da indigência a que vivem relegadas suas maiorias (ARAÚJO, 2001).

A Microrregião de Juazeiro, Bahia (BA), também denominada de Região do Baixo Médio São Francisco (Figura 1), está localizada na parte setentrional do estado, na Mesorregião do Vale São Franciscano e é formada por oito municípios: Campo Alegre de Lourdes, Pilão Arcado, Remanso, Sento Sé, Casa Nova, Sobradinho, Juazeiro e Curaçá (BAHIA, 2009). Dentre as principais características desta microrregião, se destacam o clima semiárido, a pecuária familiar, a agricultura irrigada, a presença do Rio São Francisco e do Lago de Sobradinho. O Lago de Sobradinho é a maior represa

artificial da América Latina e foi construído na década de 1970 para a instalação da usina hidrelétrica. No Pólo Agroindustrial de Petrolina-Juazeiro, encontram-se os maiores produtores de manga e uva do país, tendo alguns já alcançado mercados externos (MOREIRA et al., 1998; EMBRAPA, 2009).

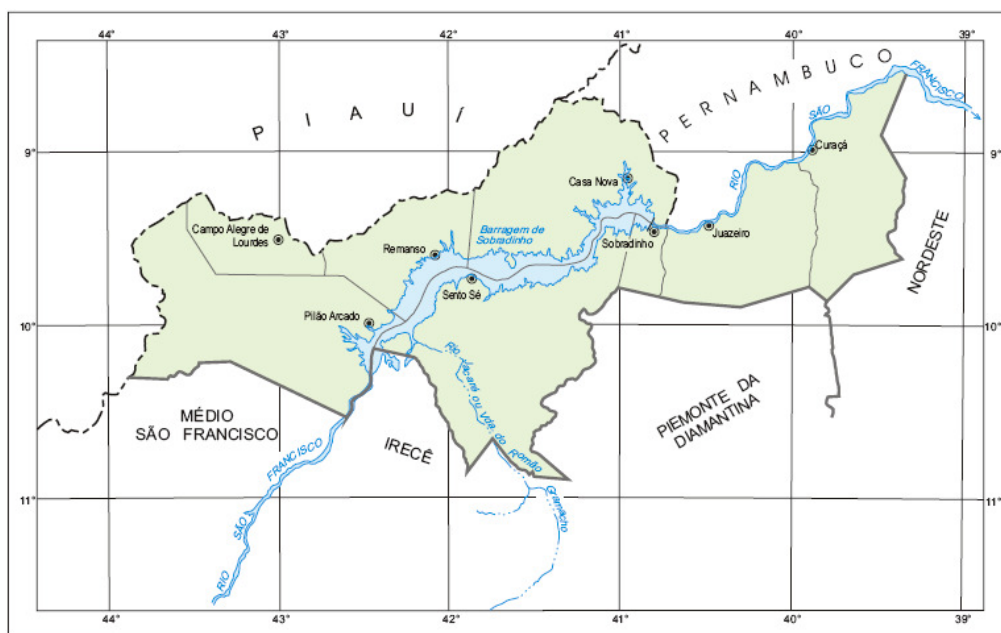


Figura 1. Rio São Francisco, Lago de Sobradinho e Microrregião de Juazeiro, Bahia (Região do Baixo Médio São Francisco). Fonte: BAHIA (2009).

A Microrregião de Juazeiro possui uma das maiores concentrações de ovinos do país, com 614.782 ovinos, o equivalente a aproximadamente 23% do rebanho baiano e 4,3% do rebanho nacional, segundo o Censo Agropecuário de 2006 (IBGE, 2010). Nessa região, as criações de caprinos e ovinos têm representado uma saída para a atividade familiar e em especial, têm experimentado um desenvolvimento sem precedentes, favorecido principalmente pelo surgimento de restaurantes especializados (SOUZA, 2004). Entretanto, problemas sanitários, nutricionais e de manejo comprometem a produção e a produtividade dessas espécies (VIEIRA et al., 2001).

Os sistemas de criação predominantes na Microrregião de Juazeiro caracterizam-se pelo regime extensivo, com nível rudimentar de tecnologia, baixa produtividade, pouca ou nenhuma assistência técnica e alta morbidade e mortalidade em virtude de manejo sanitário deficiente, o que resulta em baixa remuneração ao produtor e compromete o desenvolvimento da cadeia local (MARTINEZ et al., 2010). Apesar disso, a ovinocaprinocultura possui extrema importância socioeconômica, uma vez que constitui atividade geradora de recursos e conseqüentemente contribui para o desenvolvimento regional (ALMEIDA et al., 2003; COLETO et al., 2003).

O modo de vida basicamente rural sempre preponderou no semiárido nordestino, seguindo um modelo de subsistência da agricultura e pecuária, que em sua maioria é de rebanho de caprinos e ovinos. Entretanto, o baixo nível de escolaridade é um grande empecilho à modernização da atividade e à implantação de novas tecnologias (SOUZA, 2004).

A cultura de um povo se sedimenta a partir do conhecimento que cada indivíduo acumula sobre o universo em que vive, ou seja, da percepção de seu ecossistema. Grande parte desse conhecimento é transmitida por ancestrais ou ensinamentos escolares. No caso do semiárido, é imperativo adaptar a educação elementar para viver os conhecimentos básicos desse meio, valorizando os seus potenciais e enriquecendo os indivíduos culturalmente de forma a prepará-los para realidade em que estão inseridos (ARAÚJO, 2001).

O estado sanitário e nutricional deficitário presente nas criações de caprinos e ovinos, juntamente com a ausência ou uso inadequado de tecnologias constituem três pilares nos quais se apóiam as mais importantes causas de baixa produção e rentabilidade da ovinocaprinocultura brasileira (PINHEIRO et al., 2003).

Na Microrregião de Juazeiro, nos últimos anos, tem havido uma movimentação no sentido de maximizar a produção de pequenos ruminantes voltada para o mercado, não apenas o nacional, mas também o internacional. Para tanto, almeja-se adotar normas sanitárias determinadas pelos órgãos competentes. Este fato tem contribuído para que haja uma preocupação e um investimento em tecnologias que possam tanto aumentar a produtividade quanto melhorar o rebanho (SOUZA, 2004).

O sucesso da criação de caprinos e ovinos depende de vários fatores, entre os quais figuram, com destaque, as práticas sanitárias. Estas, quando organizadas em sistema de informações, fornecem os elementos essenciais acerca da diversidade e magnitude dos problemas de saúde prevalentes numa região. Qualquer que seja a natureza de uma enfermidade, todo o processo para o seu tratamento, controle e/ou erradicação, se inicia com o diagnóstico. Entretanto, o diagnóstico por si só não resolve, tendo grande importância a epidemiologia, oferecendo dados para o planejamento de atividades no sentido de traçar medidas de controle e/ou prevenção das doenças (PINHEIRO et al, 2002).

A entrada de novas enfermidades ou novas cepas mais virulentas em uma região pode ter graves implicações sanitárias e econômicas nos fluxos produtivos de caprinos e ovinos. Desta forma, a implantação de medidas de controle e a maior atuação das barreiras sanitárias são de vital importância para a economia de um país (THIBIER, 2001).

A globalização teve que vir acompanhada por exigências na qualidade da produção. Os blocos econômicos têm, cada qual, sua normatização sobre controle e inspeção de animais baseada em risco epidemiológico. O comércio de material genético se intensificou nos últimos anos e a análise de risco é uma ferramenta que facilita a tomada de decisões. Essa análise inclui a avaliação epidemiológica da presença de

agentes patógenos e a possibilidade do material genético infectado ocasionar a doença (RIBEIRO, 1993; CARVALHO et al., 2007).

Nos sistemas de criação de caprinos e ovinos, a ocorrência de enfermidades como verminose, eimeriose, mastite, clostridioses, linfadenite caseosa, pododermatite, ceratoconjuntivite entre outras, é bastante conhecida. Entretanto, agentes como os lentivírus de caprinos e ovinos, o vírus da língua azul e a *Brucella ovis* inspiram cuidados pela escassez de informações.

Com as perspectivas de crescimento da ovinocaprinocultura e melhoria dos rendimentos do produtor, a adoção de normas sanitárias torna-se imprescindível diante de tantas enfermidades que podem comprometer essa cadeia produtiva. Por outro lado, para a implantação de um programa sanitário, informações acerca da ocorrência das doenças e do impacto delas nesse cenário econômico são necessárias.

Para decidir sobre quais as medidas sanitárias a serem implantadas, deve-se primeiramente, considerar o risco ou a ocorrência da enfermidade e em segundo lugar, avaliar as ações a serem introduzidas. Portanto, um pré-requisito importante para o desenvolvimento e/ou adaptação de estratégias de manejo sanitário adequadas, que contribuam para a sustentabilidade econômica e para a manutenção da exploração pecuária, é o conhecimento da real importância das diversas doenças (TOMICICH et al., 2006).

Nesse sentido, destacando-se a relevância socioeconômica da ovinocultura para a Microrregião de Juazeiro e a representatividade do seu rebanho para o estado e o país, este trabalho teve por objetivo a condução de inquérito soro-epidemiológico do vírus da língua azul e *Brucella ovis* em rebanhos ovinos dessa região do semiárido baiano.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Língua Azul (*Bluetongue*)

2.1.1 Etiologia

O vírus e seus sorotipos

A língua azul (LA) ou *bluetongue* (BT) é uma doença viral, não contagiosa, transmitida por mosquitos do gênero *Culicoides* sp., capaz de infectar todas as espécies de ruminantes domésticos e selvagens, apesar de a ocorrência da doença clínica ter sido demonstrada principalmente em ovinos e em algumas espécies de cervídeos. O vírus da língua azul (VLA ou BTV – *bluetongue virus*) é membro do gênero *Orbivirus* e da família *Reoviridae* e 24 sorotipos tinham sido identificados até pouco tempo, em diversos países do mundo, localizados nas áreas tropicais e subtropicais (COSTA et al., 2006; BATTEN et al., 2008; WILSON et al., 2008).

Na Suíça, um orbivírus desconhecido foi isolado na região de Toggenburg e assim denominado como Orbivírus Toggenburg (TOV). Investigações foram conduzidas visando à caracterização dessa nova estirpe viral, através de análises genômicas dos segmentos 2, 5, 6, 7, 8, 9 e 10. A partir daí, foi observada uma grande similaridade entre o genoma do VLA e do TOV e por isso este foi designado como o 25º sorotipo do VLA (HOFMANN et al., 2008; CHAIGNAT et al., 2009).

A partícula viral

A partícula viral possui uma complexa estrutura icosaédrica (Figura 2). Não há envelope lipídico. O vírus possui aproximadamente 70nm de diâmetro, compreendendo o genoma de dez segmentos de ácido ribonucleico de fita dupla (*double stranded RNA - dsRNA*) circundado por três camadas protéicas concêntricas que formam o capsídeo. A camada interna é constituída pela proteína viral 3 (VP3) e contém três enzimas na

superfície interna (VP1, VP4 e VP6). A camada média é composta por VP7, que possui grupos antigênicos. VP2 e VP5 formam a camada externa. VP2 contém a maioria dos antígenos neutralizadores virais, tendo uma sequência variável entre os diferentes sorotipos. Enquanto as duas proteínas da camada externa são responsáveis pela entrada do vírus e estabelecimento da infecção, os componentes internos são responsáveis pela replicação do genoma viral. A replicação ocorre no citoplasma da célula hospedeira, muitas vezes com a formação de inclusões intracelulares. Três proteínas não estruturais NS1, NS2 e NS3 são produzidas durante a replicação viral nas células infectadas (CHAGAS & PINHEIRO, 2003; QUINN et al., 2005a; BATTEN et al., 2008; SCHWARTZ-CORNIL et al., 2008; ROY et al., 2009).

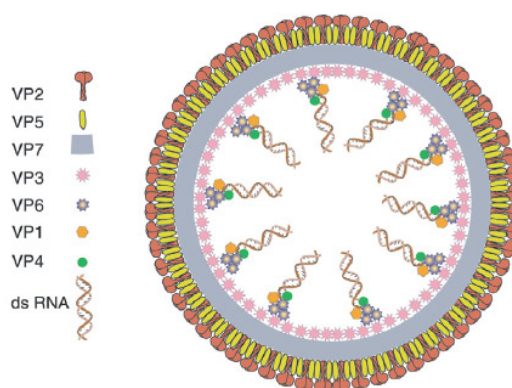


Figura 2. Esquema representativo da estrutura do vírus da língua azul com suas proteínas e segmentos de dsRNA. Fonte: Schwartz-Cornil et al. (2008).

O vírus é inativado a 50°C por três horas ou a 60°C por 15 minutos. É sensível ao pH ácido menor que seis e alcalino maior que oito. Pode ser inativado por componentes fenólicos e iodóforos. É estável na presença de proteína, podendo sobreviver por anos no sangue estocado a -20°C (OIE, 2008).

2.1.2 Histórico

Apesar de os primeiros relatos só terem sido publicados no final do século XIX e início do século XX, a LA foi inicialmente descrita por fazendeiros na África do Sul

como “febre catarral ovina” e causou sérios transtornos, sendo observada após a importação de ovinos da raça Merino da Europa, no final do século XVIII. A denominação “bluetongue” mais tarde foi utilizada para descrever a cianose da língua de ovinos severamente afetados. Após Theiler, em 1906, ter demonstrado que o agente causal da LA é uma partícula filtrável, muitas cepas têm sido identificadas em muitas regiões do mundo. A doença foi reconhecida pela primeira vez, na espécie bovina, em 1933, na África do Sul (MACLACHLAN, 2004; VELLEMA, 2008).

A primeira epizootia de LA fora da África ocorreu em ovinos no Chipre, em 1943. Na península ibérica, a epizootia de 1956 a 1960 foi severa e resultou na morte de quase 180.000 ovinos. O mais grave surto europeu se iniciou em 1998, na bacia do Mediterrâneo e resultou na perda de mais de 800.000 ovinos (VELLEMA, 2008). Além disso, a LA desintegrou o comércio de animais e produtos de origem animal nos Estados Unidos, que tiveram prejuízos anuais de 125 milhões de dólares (TABACHNICK, 1996).

A partir da década de 70, com o aumento do uso de técnicas sorológicas simples para detecção de anticorpos em animais previamente infectados, revelou-se que o VLA estava amplamente distribuído em países das áreas tropicais e subtropicais e o vírus foi isolado ou anticorpos anti-VLA identificados em vários países onde a doença clínica nunca foi reconhecida nos animais (LOBATO, 1999).

2.1.3 Epidemiologia

Língua Azul no mundo

Há claras evidências de que a infecção por VLA ocorre em regiões tropicais e subtropicais do mundo, se estendendo também para muitas regiões temperadas. A enfermidade, entretanto, é rara ou inexistente em muitas áreas com infecção endêmica.

Além disso, está aparentemente claro que a disseminação mundial do VLA não é um evento recente e diferentes sorotipos e cepas estão envolvidos, coincidindo com a presença de distintas espécies de *Culicoides* (MACLACHLAN, 2004).

A distribuição geográfica da ocorrência do VLA pode ser dividida em três zonas: endêmicas, epidêmicas e incursivas. Nas zonas endêmicas, a infecção é comum, mas o aparecimento da doença clínica é rara devida à presença de grande número de animais imunes. Nestas áreas, a prevalência do vírus determinada através de testes sorológicos é alta e o vírus pode ser isolado de vetores ou de animais virêmicos. Porém, geralmente a doença clínica não é reportada nos rebanhos. Nas zonas epidêmicas, o número de animais com anticorpos contra a doença varia e geralmente é focal. Assim, surtos esporádicos podem ocorrer. Na zona incursiva, animais soropositivos são raros, assim como o aparecimento da doença (LOBATO, 1999).

A LA existe em todo o mundo em uma ampla faixa que abrange grande parte das Américas, África do Sul, Ásia, norte da Austrália e ocasionalmente, a margem do sul da Europa. É considerada uma das mais importantes doenças dos animais domésticos. Recentemente, o vírus causador desta enfermidade se espalhou pelo norte da Europa em áreas nunca antes atingidas e persiste em muitos desses locais causando a maior epizootia da doença já registrada. As razões para esta mudança dramática na epidemiologia da LA são complexas, mas estão relacionadas às extensões recentes na distribuição de seu vetor principal, o mosquito *Culicoides imicola*, com o envolvimento de novos vetores *Culicoides* e com uma aparente capacidade de o vírus “hibernar” na ausência de vetores adultos. Além disso, os efeitos dessas mudanças têm sido agravados por problemas no controle, particularmente em relação à vacinação (MELLOR & WITTMANN, 2002).

Inquéritos sorológicos demonstraram que muitos sorotipos de VLA circulavam nas margens da Europa por diversas décadas. O potencial para a entrada do vírus sempre existiu, seja pelo movimento de ruminantes infectados ou pela dispersão dos vetores através do vento. A epidemia se iniciou em outubro de 1998, quando o VLA-9 foi detectado em quatro ilhas gregas (Rhodos, Kos, Samos e Lesbos), próximas da costa turca. Nos anos subsequentes até 2004, o vírus se disseminou para o norte (Turquia, Bulgária, Kosovo, Albania, Bósnia e Herzegovina, República Iugoslava da Macedônia, Sérvia e Montenegro, Croácia) e para o oeste (Grécia, Itália, Sicília, Sardenha e Córsega). Mais três sorotipos, VLA-1, VLA-4 e VLA-16 também entraram na Europa pelo leste e então se disseminaram para o oeste. Uma rota separada ocorreu com o VLA-2, em 2000, que se disseminou da Tunísia e/ou Argélia para Sardenha, Sicília, Itália, Córsega e Ilhas Baleares. Em 2004, o VLA-4 se espalhou de Marrocos para o sudoeste da Espanha e sul de Portugal (PURSE et al., 2005).

Em agosto de 2006, sinais clínicos da LA foram identificados na Holanda. Demonstrou-se o RNA em amostras de casos suspeitos por teste de reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR) e identificaram-se anticorpos para o VLA em amostras de soro por ensaio imunoenzimático competitivo (cELISA). Confirmou-se o sorotipo VLA-8, que nunca foi observado na Europa anteriormente. Até o final de 2006, o VLA se disseminou por extensas áreas cruzando o norte europeu, incluindo Holanda, Bélgica, Alemanha, norte da França e Luxemburgo. Em 2007, o VLA-8 continuou se disseminando nestes países, infectando ruminantes do Reino Unido, Dinamarca e Suíça (BATTEN et al., 2008; VELLEMA, 2008).

Neste surto de VLA-8 no norte europeu, foi a primeira vez que o vírus foi detectado além da latitude 52° N. Com o surto de LA na Dinamarca em 2007, o limite norte do vírus foi deslocado além da latitude 54° N (VELLEMA et al., 2008).

No início de 2008, vários animais positivos para VLA foram observados em um rebanho caprino da região de Toggenburg, na Suíça, através de ELISA e RT-PCR em tempo real (rRT-PCR) para o segmento 10 do genoma viral. Entretanto, os níveis de anticorpos e de RNA viral foram inesperadamente baixos. Além disso, a presença do RNA viral não pôde ser confirmada utilizando outros protocolos de rRT-PCR, sugerindo que a sequência-alvo no segmento 10 do RNA provavelmente fosse diferente de todas as estirpes de VLA conhecidas. A sequência de nucleotídeos da rRT-PCR indicou que essa nova estirpe viral era um orbivírus intimamente relacionado, mas não idêntico a nenhum dos sorotipos de VLA conhecidos (HOFMANN et al., 2008).

Investigações conduzidas para a caracterização desse vírus, denominado de Toggenburg Orbivirus (TOV), concluíram que o mesmo representa o 25º sorotipo do VLA. Através de análise filogenética, verificou-se que o TOV possui estreita relação com o VLA, apesar de os segmentos genômicos serem distintos dos 24 sorotipos conhecidos. Como houve somente 63% de identidade para o segmento 2 com qualquer um dos 24 sorotipos, o TOV foi designado como o novo sorotipo até então desconhecido. O segmento 2 codifica a proteína estrutural VP2, que contém os determinantes sorotipo-específicos. Logo, este segmento contém informações para designar o sorotipo de VLA (HOFMANN et al., 2008; CHAIGNAT et al., 2009).

O fato de a maioria dos laboratórios utilizarem rRT-PCR específico para os segmentos 1 ou 5 na rotina diagnóstica pode explicar por que o TOV não tinha sido detectado (HOFMANN et al., 2008). Além disso, na Suíça, caprinos não possuem um papel econômico importante e raramente são transportados para fins comerciais. Logo, testes para diagnóstico de enfermidades em caprinos são infrequentes, sendo possível que o TOV esteja circulando por um longo período nessa população (CHAIGNAT et al., 2009).

Na Argentina, apesar de a doença clínica nunca ter sido relatada, a atividade viral foi detectada e o vírus isolado de rebanhos sentinelas. Os rebanhos sentinelas, constituídos por bovinos, foram monitorados sorologicamente (cELISA) de junho de 1999 a abril de 2001, em Santo Tomé, província de Corrientes. As células vermelhas dos animais que soroconverteram foram processadas para isolamento viral por meio da inoculação em ovos de galinha embrionados e em cultivos celulares (BHK). Através de soroneutralização e RT-PCR, identificou-se o sorotipo 4. O *C. insignis* foi identificado como o vetor predominante através de armadilhas de luz colocadas próximas aos animais sentinelas. Este foi o primeiro isolamento de VLA na Argentina (LAGER et al., 2004).

Em 1980, 60 zebuínos oriundos do Brasil foram admitidos na Flórida (Estados Unidos da América – EUA) para quarentena por 150 dias. Durante os 30 dias entre o último teste no Brasil e o primeiro na Flórida, quatro animais apresentaram anticorpos para o VLA detectáveis por teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA). Após 62 dias da chegada na Flórida, três outros animais soroconverteram e um outro após 86 dias. Os títulos de neutralização viral dos soros dos primeiros quatro bovinos foram altos para os sorotipos 4 e 20, ambos exóticos nos EUA. O VLA-4 foi isolado de um dos animais a partir de ovos de galinha embrionados e cultivo celular (MVPK). Os oito animais positivos foram abatidos e os outros 52 que não desenvolveram anticorpos foram liberados para entrar nos EUA (GROOCOCK & CAMPBELL, 1982).

Existem evidências de que o VLA não se disseminou recentemente pelo mundo através do comércio internacional e movimento de ruminantes. Acredita-se que o vírus exista em ecossistemas relativamente estáveis em diferentes regiões do mundo, onde as cepas específicas para o vírus provavelmente co-evoluíram com diferentes espécies do inseto vetor. Logo, nas Américas, os sorotipos que circulam nos EUA são diferentes

daqueles das regiões adjacentes do Caribe e da América Central. A diferença essencial reside nas várias espécies de insetos vetores nas regiões: *C. sonorensis* é vetor do VLA sorotipos 10, 11, 13 e 17 nos EUA, enquanto o *C. insignis* é vetor dos sorotipos 1, 3, 4, 6, 8, 12, 14 e 17 nas Américas Central e do Sul (MACLACHLAN, 2004). Apesar de múltiplos sorotipos para o VLA poderem estar circulando pela América do Sul, a doença clínica não tem sido relatada com muita frequência (CLAVIJO et al., 2002).

Relatos de casos clínicos no Brasil

Entre fevereiro e junho de 1998, foram observados em uma propriedade do distrito de Xerém, município de Duque de Caxias, estado do Rio de Janeiro, diversos ovinos e caprinos com sintomas semelhantes aos da LA, caracterizados por sialorreia, hiperemia oral, congestão e inflamação das membranas mucosas, cianose e ulceração dos lábios e da língua, laminite e edema. Foram colhidas duas amostras de sangue de ovinos para diagnóstico sorológico (IDGA e ELISA) no Centro Panamericano de Febre Aftosa (CPFA), que foram positivas para LA. Posteriormente, 53 amostras de soro de caprinos, ovinos e bovinos foram encaminhadas para o CPFA, sendo que 56% (23/41) dos ovinos e 100% (6/6) dos caprinos foram positivos. Das seis amostras de bovino, nenhuma foi positiva. Foram registrados três óbitos, um caprino e dois ovinos. Isso comprovou a presença do vírus no país evidenciada pela ocorrência de anticorpos séricos relatada em levantamentos sorológicos efetuados anteriormente. São poucos os relatos de animais apresentando sintomas evidentes da LA, o que não corresponde à verdadeira dimensão desta enfermidade no Brasil (FIGUEIREDO et al., 2007).

Em abril de 2001, uma fazenda localizada na região de Curitiba, estado do Paraná, relatou um rebanho de ovinos com doença aguda e severa. A fazenda possuía um rebanho misto contendo 130 ovinos e três caprinos, juntos com 56 bovinos. Ruminantes

selvagens também foram vistos na propriedade. Foram colhidas amostras de sangue e fragmentos de tecidos (baço, coração e pulmão) de ovinos e caprinos que apresentaram sinais clínicos. Através da RT-PCR, identificou-se a sequência 101bp do segmento 6 do VLA. Para confirmação dos resultados da biologia molecular, conduziu-se com o isolamento viral em ovo embrionado de galinha e em cultivo de BHK-21. O teste de neutralização viral foi utilizado para tipificação do vírus utilizando-se como referência os sorotipos de VLA conhecidos. O isolado foi neutralizado por soro anti-VLA tipo 12 (CLAVIJO et al., 2002).

Vinte e um ovinos e um caprino apresentaram sinais clínicos consistentes com o diagnóstico da LA. Dois ovinos e um caprino morreram com a doença e os restantes 128 ovinos e dois caprinos foram sacrificados. Realizou-se investigação sorológica por IDGA e cELISA na propriedade e detectou-se a soroconversão de 70% dos animais. Este foi o primeiro isolamento do VLA sorotipo 12 no Brasil (CLAVIJO et al., 2002).

Estudos sorológicos no Brasil

De acordo com levantamentos sorológicos realizados em vários estados com diferentes espécies de ruminantes domésticos, o VLA está amplamente difundido no Brasil, indicando a necessidade de maior divulgação do problema e das medidas de prevenção. A presença do vetor proporcionou a sua disseminação. Pelos dados obtidos com a sorologia e pelo pequeno número de relatos de casos clínicos da doença no campo nas diferentes espécies que se apresentam soropositivas, tudo indica que o vírus se dissemina pelos rebanhos do país de forma silenciosa. As causas para esse fato podem ser a baixa virulência das cepas presentes ou a maior resistência de algumas raças contra à doença. Além disso, as condições de temperatura e umidade na grande parte do país favorecem a multiplicação e manutenção dos vetores do vírus, devendo

assim mantê-lo endemicamente, com uma grande parte da população de ruminantes imunes da infecção pelos sorotipos presentes na área (CHAGAS & PINHEIRO, 2003; TOMICH et al., 2006).

De acordo com Lobato (1999) e Costa et al. (2006), a primeira indicação da presença do VLA no Brasil foi relatada por Silva, em 1978, que demonstrou anticorpos em bovinos e em ovinos de propriedades do estado de São Paulo, reportando à OIE. Na tabela 1, constam resultados de estudos sorológicos do VLA realizados em diferentes regiões de alguns estados brasileiros.

Tabela 1. Frequência de propriedades e animais positivos para língua azul em estudos conduzidos com bovinos, caprinos e ovinos em diferentes regiões do país.

Estado	Espécie	Animais soropositivos (%)	Propriedades positivas (%)	Método	Autores
São Paulo	Ovinos	13,75 (74/538)	-	IDGA* ¹	Venditti et al. (2009)
		19,33 (104/538)	-	ELISA* ²	Venditti et al. (2009)
Rio Grande do Sul	Ovinos	0,16 (2/1.331)	0,74 (1/135)	IDGA	Costa et al. (2006)
	Bovinos	0,60 (8/1.272)	1,6 (2/128)	IDGA	
Minas Gerais	Bovinos	59,51 (776/1.304)	100 (15/15)	IDGA	Konrad et al. (2006)
	Caprinos	44,5 (965/2.168)	95% (415/436)	IDGA	Gouveia et al. (2003b)
	Ovinos	53,8 (769/1.429)		IDGA	
Paraíba	Ovinos	4,1 (27/506)	6,0 (22/289)	IDGA	Alves et al. (2009)
	Ovinos	0 (0/68)	0 (0/5)	IDGA	Gouveia et al. (2003a)
	Bovinos	4,38 (6/137)	16,67 (2/12)	IDGA	Melo et al. (2000)
Ceará	Ovinos	27,31 (74/271)	68,8 (11/16)	IDGA	Dias et al. (2007)
	Caprinos	30,6% (570/1.865)	83,2% (99/119)	IDGA	Silva (2002)
Sergipe	Bovinos	89,7 (87/96)	-	IDGA	Melo et al. (1999)

*¹IDGA=imunodifusão em gel de ágar

*²ELISA=ensaio imunoenzimático

A frequência de cordeiros portadores de anticorpos contra o VLA nas regiões de Araçatuba e Sorocaba, São Paulo (SP), com idade entre três e sete meses, de ambos os sexos, foi de 13,75% (74/538) no teste de IDGA e de 19,33% (104/538) no teste de ELISA. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Viroses de Bovídeos do Instituto Biológico – SP, autorizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para realização do diagnóstico de LA. As propriedades visitadas foram selecionadas a partir da constatação da prevalência de LA em 65% dos ovinos adultos, testados por IDGA (VENDITTI et al., 2009).

No Rio Grande do Sul (RS), apenas uma propriedade de 135 pesquisadas (0,74%) apresentou dois ovinos positivos, o que significa 0,16% de prevalência em relação ao total de ovinos estudados, que foi de 1.331 animais. Das propriedades amostradas para bovinos, duas foram positivas (1,6%) de 128 pesquisadas, sendo uma com dois bovinos positivos e outra com seis. Isto representou 0,60% de prevalência, considerando-se o total de bovinos estudados, que foi de 1.272 animais. Os resultados demonstraram baixa prevalência de anticorpos contra o VLA em ovinos e bovinos no Rio Grande do Sul quando comparada a outras regiões do Brasil, provavelmente devido às condições climáticas menos favoráveis para a multiplicação do vetor (COSTA et al., 2006).

Em trabalho realizado em Minas Gerais (MG) com 15 rebanhos bovinos de aptidão leiteira com histórico de transtorno reprodutivo, foram colhidas 1.304 amostras de soro de fêmeas e 776 (59,51%) foram positivas pela técnica de IDGA, realizada no Laboratório de Diagnóstico de Doenças a Vírus da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Em todas as propriedades pesquisadas, observaram-se animais com anticorpos contra o VLA, indicando a sua ampla disseminação nos rebanhos e a necessidade do controle para evitar epidemias, o que provocaria prejuízos consideráveis à produção. A alta ocorrência de animais com

sorologia positiva para LA é um indicativo de que o vírus está circulando no ambiente de forma intensa. Entretanto, não foi observada associação desta enfermidade com os transtornos reprodutivos (KONRAD et al., 2004).

Também em Minas Gerais, Gouveia et al. (2003b) observaram 44,5% (965/2.168) de caprinos e 53,8% (769/1.429) de ovinos soropositivos, sendo 95% (415/436) das propriedades positivas, através da prova de IDGA, utilizando-se antígeno produzido na Escola de Veterinária da UFMG. Os autores ressaltaram que a LA está amplamente difundida nos rebanhos de caprinos e ovinos desse estado.

Gouveia et al. (2003a) não observaram ovinos positivos (0/68) oriundos de propriedades e matadouros da Paraíba (PB). Entretanto, Alves et al. (2009) no semiárido paraibano, detectaram a prevalência de 11,6% (22/189) de propriedades com ovinos positivos e 8,4% (27/321) de animais soropositivos na mesorregião do Sertão. Na mesorregião da Borborema, não foram observados animais soropositivos (0/185) em 100 propriedades amostradas. Tanto Gouveia et al. (2003a) quanto Alves et al. (2009) empregaram a técnica de IDGA, com antígeno produzido na Escola de Veterinária da UFMG. Também no sertão paraibano, Melo et al. (2000) observaram 4,38% (6/137) de bovinos positivos oriundos de duas das 12 propriedades amostradas, utilizando o teste de IDGA com antígeno Ames.

Em levantamento realizado com sete municípios do Ceará (CE) com rebanhos ovinos, observou-se a soroprevalência de 27,31% (74/271), sendo que 68,8% (11/16) das propriedades possuíram animais positivos, através do teste de IDGA utilizando kit comercial americano da *Veterinary Medical Research and Development* - VMRD (DIAS et al., 2007). Também no Ceará, de 119 rebanhos caprinos amostrados, 99 (83,2%) foram positivos, sendo que dos 1.865 animais testados por IDGA com o antígeno da Escola de Veterinária da UFMG, 570 (30,6%) foram sororeagentes.

Segundo o autor, estes dados demonstram que a LA está amplamente difundida nos rebanhos de caprinos do Ceará, mas a falta de relatos de casos clínicos da doença no campo nas diferentes espécies suscetíveis indica que o vírus se espalha pelos rebanhos do país de forma clínica inaparente (SILVA, 2002).

Em Sergipe (SE), foram colhidas 97 amostras de soro de bovinos em um matadouro de Aracaju, provenientes de oito municípios (Boquim, Estância, Itaporanga, Tobias Barreto, Riachão do Dantas, Riachuelo, Frei Paulo e Capela). Do total de amostras testadas por IDGA, 87 (89,7%) foram positivas e em todos os municípios foram observados animais soropositivos (MELO et al. 1999).

Hospedeiros, vírus e vetor: o ciclo de transmissão

Como as demais arboviroses, a LA faz parte de uma complexa e dinâmica interação envolvendo o hospedeiro, o vírus e o vetor. A transmissão se dá pela picada do mosquito infectado com o VLA em animais suscetíveis. A manutenção do vírus ocorre através de um ciclo essencial em ruminantes e espécies de *Culicoides* (KONRAD et al., 2004). No Brasil, os *Culicoides* são conhecidos como “maruim”, “mosquito pólvora” ou “mosquito do mangue” (TOMICH et al., 2006).

O vírus se replica em todas as espécies de ruminantes, mas a doença severa é mais restrita a algumas raças de ovinos, particularmente as de lã fina e de corte e a algumas espécies de cervídeos (PURSE et al., 2005). Na América do Sul, raças nativas de ovinos são suspeitas de possuírem alta prevalência de anticorpos, mas aparentarem resistência à LA (CLAVIJO et al., 2002).

Os *Culicoides* são dípteros da família Ceratopogonidae (MELLOR et al., 2000). Menos de 1% de mais de 1.400 espécies descritas tem sido incriminadas na transmissão do VLA, apesar de poucas espécies terem sido estudadas (PURSE et al., 2005). Após a

ingestão de sangue contendo o vírus pelo mosquito (Figura 3), o sangue é direcionado para o intestino e o vírus se replica nas células intestinais. As partículas virais resultantes escapam para a hemocele e infectam uma série de órgãos-alvos secundários, incluindo as glândulas salivares. Após replicação nas glândulas salivares, o vírus está disponível para transmissão durante as picadas. Machos não se alimentam de sangue, mas as fêmeas adultas realizam atividade de voo a procurar uma refeição de sangue (MELLOR et al., 2000). A infecção no vetor *Culicoides* persiste por toda a vida (MACLACHLAN, 2004).



doi:10.1371/journal.pbio.0060210.g001

Figura 3. Mosquito *Culicoides* se alimentando de sangue. Fonte: Wilson et al. (2008).

Para ocorrer a transmissão (Figura 4), um vetor adulto competente deve se alimentar em um hospedeiro virêmico. O vetor deve sobreviver pelo período de incubação extrínseco do vírus e durante o intervalo para a próxima refeição, se alimentando em um hospedeiro suscetível (PURSE et al., 2005).

Sendo assim, o vetor infectado injeta o vírus no hospedeiro através da saliva, enquanto se alimenta. No hospedeiro infectado, o vírus passa por um período curto de latência antes de ser encontrado em altos níveis na circulação. O vetor, então, pica o hospedeiro virêmico e se infecta. O vírus ingerido se replica no vetor e atinge as glândulas salivares, ponto em que o ciclo se completa (WILSON et al., 2008).

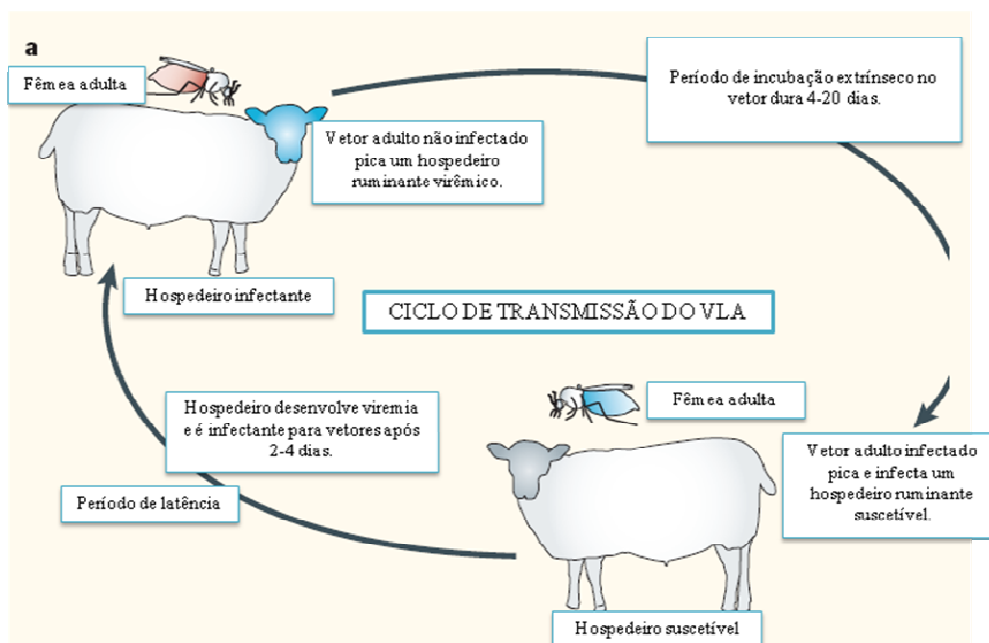


Figura 4. Ciclo de transmissão do vírus da língua azul. Fonte: Purse et al. (2005) adaptado.

Insetos vetores podem transmitir o vírus somente após o período extrínseco de incubação de 4 a 20 dias (PURSE, 2005). Esse período é menor quando os insetos são mantidos em ambiente de alta temperatura. A temperatura desempenha um papel importante na infecção e transmissão do vírus, sobre a sobrevivência dos insetos vetores, em suas atividades de alimentação e na replicação do VLA no inseto vetor (MELLOR et al., 2000; MACLACHLAN, 2004).

Além da temperatura, os eventos importantes do ciclo de transmissão do VLA são modulados também pela umidade e a probabilidade dele se completar é relativamente baixa. Entretanto, a abundância de vetores *Culicoides* e as condições favoráveis do verão/outono compensam esse entrave (PURSE et al., 2005).

A partir de estudos em propriedade infectada com o TOV, considerado como o 25° sorotipo do VLA, concluiu-se que esse vírus não é facilmente transmitido para bovinos e alpacas. A prevalência do vírus em caprinos foi alta na referida propriedade, mas nenhum dos bovinos ou alpacas soroconverteram. A baixa taxa de replicação e

transmissão e a restrição a hospedeiros também podem explicar por que o vírus ainda não tinha sido identificado. É possível que outras espécies de ruminantes além de caprinos e ovinos sejam reservatórios para o TOV (CHAIGNAT et al., 2009).

Período de viremia e reservatórios

A importância e a complexidade do papel do gado bovino como reservatório, o contínuo surgimento de focos de infecção e/ou da doença em diversos países e a contaminação de produtos biológicos dificultam o comércio destes nos países do Mercosul, nos EUA e na Europa (ALVES et al., 2009).

A viremia é essencial para a transmissão do VLA e a sua duração nas diferentes espécies animais tem relação direta com o papel dessas na disseminação do vírus. Os bovinos têm sido considerados como os mais importantes na epidemiologia da LA (KOUMBATI et al., 1999).

Várias espécies de *Culicoides* de comprovada competência na transmissão da doença se alimentam preferencialmente em bovinos, considerados como reservatórios do vírus (ALVES et al., 2009). Um dos fatores que contribui para a ocorrência de elevado número de bovinos soropositivos em uma região é o fato de esses animais poderem apresentar viremia prolongada, podendo chegar a 100 dias, o que aumenta a probabilidade de infecção de mais mosquitos transmissores e conseqüentemente, eleva o número de animais infectados (KOUMBATI et al., 1999; KONRAD et al., 2004).

O VLA foi isolado do sangue de bovinos infectados até 49 dias após a infecção, enquanto que o vírus não foi mais isolado em ovinos infectados após 11 dias da infecção. Entretanto, o RNA do vírus foi detectado no sangue de ruminantes infectados por 111-222 dias após a infecção. A viremia por VLA é prolongada por causa da interação do vírus com os eritrócitos. Entretanto, ela é transitória e somente ruminantes

que possuem vírus no sangue detectado por isolamento viral são capazes de infectar o *Culicoides* (BONNEAU et al., 2002). Singer et al. (2001) observaram que a viremia pode persistir por 63 dias em bovinos naturalmente e experimentalmente infectados.

A viremia em caprinos e em ovinos de diferentes raças foi detectada inicialmente do terceiro para o sexto dia após a infecção, com duração de 27 a 54 dias, não havendo diferença estatística significativa da duração da viremia em ovinos (média de 34,6 dias) e em caprinos (média de 36,7 dias). Entretanto, raças de pequenos ruminantes do mediterrâneo oriental tiveram período de viremia mais longo que outras raças. A demonstração de infecções subclínicas em ovinos e caprinos, em 1979, durante a epizootia de LA na ilha grega de Lesbos e a observação de viremia prolongada de raças nativas de pequenos ruminantes sugerem que esses podem ser importantes fatores para a manutenção do vírus (KOUMBATI et al., 1999).

O papel de ruminantes selvagens na epidemiologia da LA não é conhecido. O risco de a vida selvagem agir como reservatório do VLA é um fator epidemiológico a ser explorado. Existem evidências de que o VLA está presente em ruminantes selvagens em grandes áreas da Europa e estes podem ser usados como sentinelas para a observação da circulação viral (RUIZ-FONS et al., 2008).

A suscetibilidade de ruminantes selvagens da América do Sul para o VLA e seu papel na epidemiologia da doença também requer maiores investigações (CLAVIJO et al., 2002). Na mesorregião do Sertão paraibano, na qual foram observados ovinos soropositivos para LA, o hábito da caça é rotineiro entre os agricultores, principalmente a caça de tatus (*Dasypus novemcinctus*), considerados como reservatórios do vírus. Estes animais, depois de capturados, são mantidos em ambientes domiciliares, criando assim, um possível elo de transmissão (ALVES et al., 2009).

Fatores predisponentes

Algumas raças de ovinos são mais suscetíveis à LA. Ovinos nativos de regiões tropicais e subtropicais onde o VLA é endêmico são frequentemente resistentes, enquanto que raças europeias de lã fina, como a raça Merino, são altamente suscetíveis (MACLACHLAN, 2004).

O clima é o principal fator de risco para a perpetuação do vírus, pois os insetos do gênero *Culicoides* necessitam de calor e umidade para se reproduzirem e se alimentarem de forma satisfatória (DIAS et al., 2007).

A doença está restrita a áreas onde espécies de vetores competentes ocorrem, amplamente nas partes tropicais e subtropicais do mundo, entre as latitudes 35°S e 40°N (Figura 5). A temperatura influencia diretamente a competência do vetor e a taxa de virogênese dentro dos indivíduos. O surgimento da população adulta tende a ser ótimo com temperatura variando de 25-30°C e é inibido com temperatura abaixo de 8-10°C (PURSE et al., 2005). A diminuição da temperatura resulta em baixa ou nenhuma atividade do vetor (LAGER et al., 2004).

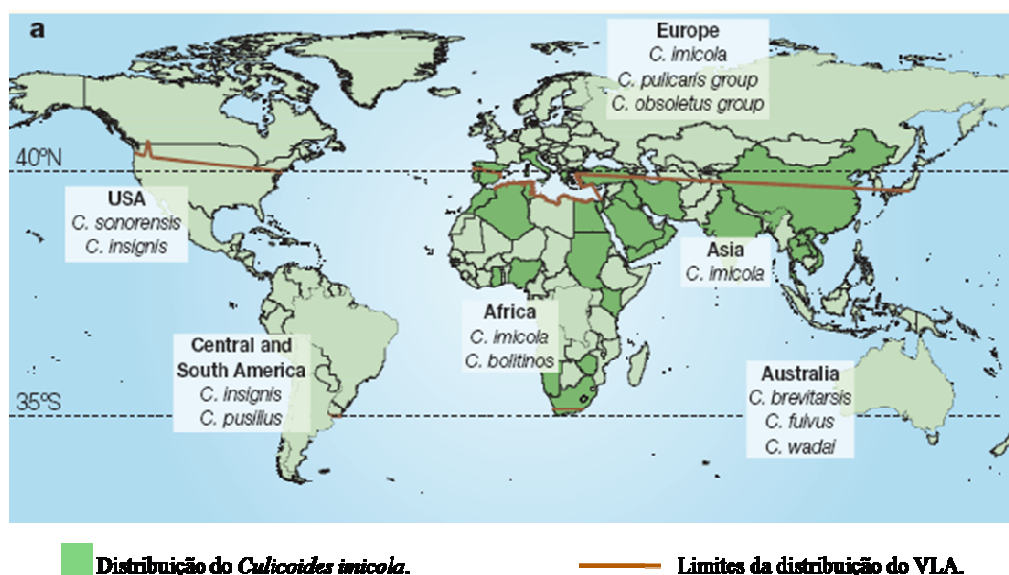


Figura 5. Distribuição do vírus da língua azul e dos vetores *Culicoides*. Países onde o *C. imicola* foi observado estão marcados de verde. Os limites da distribuição do vírus estão demarcados por linhas marrons, regiões amplamente localizadas entre as latitudes 35°S e 40°N (indicadas por linhas tracejadas). Outros vetores *Culicoides* importantes estão listados próximo ao continente ao qual eles foram envolvidos com a transmissão da LA. Fonte: Purse et al. (2005) adaptado.

As espécies de *Culicoides* são mais ativas ao amanhacer e ao entardecer. O *C. imicola* é o principal vetor na África e no Oriente Médio. Na Austrália, *C. fulvus*, *C. wadai* e *C. brevitarsis* estão envolvidos na transmissão. Outras espécies de *Culicoides* de importância na transmissão são *C. varipennis* var. *sonorensis* na América do Norte e *C. insignis* na América do Sul (QUINN et al., 2005a).

A extensão da doença pode acontecer pelo movimento de animais virêmicos ou de insetos vetores. Apesar de a distância percorrida pelo voo de espécies de *Culicoides* ser limitada, os mosquitos podem ser transportados a longas distâncias pela ação do vento, ocasionando surtos de LA fora de regiões endêmicas, em populações de ruminantes suscetíveis. Tais eventos podem precipitar epidemias que geralmente são autolimitantes, a menos que o clima seja adequado à atividade do vetor durante todo o ano (QUINN et al., 2005a).

No mínimo seis cepas de cinco sorotipos estavam envolvidas na re-emergência do VLA na Europa. Essa incidência provavelmente se relacionou a mudanças climáticas na temperatura e precipitação pluviométrica no continente europeu (PURSE et al., 2005). Pode-se esperar que a distribuição dos sorotipos de VLA na América do Sul esteja em mudança contínua devido às modificações climáticas, especialmente relacionadas à temperatura, precipitação e padrões de vento, afetando a distribuição de vetores e hospedeiros (CLAVIJO et al., 2002).

A ocorrência incomum da doença clínica e a introdução de cepas virais podem ser atribuídas a mudanças climáticas que levam à introdução de *Culicoides* infectados em áreas livres da enfermidade, aumentando a taxa de transmissão do vírus. No período de chuvas, quando a temperatura e a umidade estão elevadas, há o favorecimento da multiplicação e manutenção dos vetores, levando ao aumento da percentagem de animais soropositivos, também observado em criações intensivas ou estabuladas, onde a

concentração de animais e a presença de água são maiores. É importante também ressaltar que o trânsito pode conduzir animais virêmicos, introduzindo novos sorotipos em uma região (CLAVIJO et al., 2002; KONRAD et al., 2004; COSTA et al., 2006). Em regiões onde a temperatura e a umidade não são favoráveis à multiplicação dos vetores, a importação e o trânsito de animais infectados podem desempenhar importante papel epidemiológico na ocorrência do VLA (MELO et al., 2000).

Outros fatores que podem influenciar a cinética da distribuição da LA nos rebanhos são o tipo de exploração, o manejo e as instalações. Em estudo conduzido com bovinos leiteiros de Minas Gerais, todas as propriedades trabalhadas possuíram animais com anticorpos contra o agente e foi justamente no rebanho alojado em sistema *free stall*, onde a concentração de animais e a presença de água distribuída nas instalações são maiores, que ocorreu a maior percentagem de animais com sorologia positiva (KONRAD et al., 2004).

No Rio Grande do Sul, observou-se baixa prevalência de ovinos e bovinos soropositivos, em propriedades com tipo de criação predominantemente extensivo. A propriedade com bovinos e ovinos reagentes tinha como principal atividade a produção leiteira, em sistema semi-intensivo. Nesta propriedade, os bovinos e ovinos conviviam sob o mesmo manejo e havia muitos terrenos mistos e alagadiços, com temperatura variando de 13 a 35°C (COSTA et al., 2006).

As propriedades que não realizam a higiene nas instalações e/ou vermifugam os animais na periodicidade de duas a quatro vezes ao ano possuem maior chance de serem focos de LA. A não realização da higiene das instalações pode contribuir para a proliferação de vetores transmissores da doença. O risco de disseminação da LA de acordo com a frequência de vermifugação apresenta plausibilidade biológica, uma vez

que as aglomerações de animais podem contribuir para a disseminação do agente através do vetor (ALVES et al., 2009).

Persistência do vírus

O VLA é transmitido entre hospedeiros ruminantes por picadas de vetores *Culicoides*, mas a adversidade climática que ocorre no inverno europeu pode matar os vetores adultos. Entretanto, evidências epidemiológicas demonstraram que, na epidemia de LA na Europa, o vírus persistiu por vários anos em lugares onde as populações de vetores adultos são pequenas ou ausentes (PURSE et al., 2005).

Quando o contato entre o vetor primário e o hospedeiro primário é interrompido, há três opções para o vírus teoricamente persistir: (1) na população vetora, (2) na população hospedeira, (3) uma via alternativa no ciclo de transmissão envolvendo um ou mais novos vetores ou hospedeiros. A persistência nas populações vetoras ou hospedeiras pode se dar pela via horizontal (direta), com transmissão entre indivíduos, transmissão vertical de fêmeas infectadas para os jovens ou persistência nos indivíduos. O VLA pode persistir na população de ruminantes no caso de infecção crônica ou latente, transmissão através da placenta da mãe para o feto ou transmissão horizontal durante o coito. Como os insetos vetores geralmente ficam infectados por toda a vida e sua vida é curta, a persistência nos vetores requer a sobrevivência desses por longos períodos, o que é incomum (WILSON et al., 2008).

Como muitas espécies de *Culicoides* em latitudes setentrionais sobrevivem ao inverno como larvas, isso parece ser um mecanismo de persistência através da transmissão vertical do vírus nos vetores. Entretanto, experimentos têm demonstrado achados negativos para a transmissão vertical do VLA em *Culicoides*. Em invernos brandos, é possível que uma pequena fração de mosquitos adultos infectados possa

sobreviver o bastante para estabelecer o elo de transmissão entre as estações (WILSON et al., 2008).

Um novo mecanismo de persistência ao inverno foi delineado por Takamatsu et al. (2003). Em alguns hospedeiros, o vírus pode estabelecer uma infecção persistente nas células T $\gamma\delta$ (Figura 6). Os animais sobreviventes serão soropositivos e avirêmicos, mas carrearão o vírus nas suas células T $\gamma\delta$. Após o período de inverno, durante a primavera, novos vetores aparecem e picam os ruminantes, alguns com a infecção persistente. A picada do vetor causa uma inflamação cutânea, que recruta células inflamatórias, incluindo as células T $\gamma\delta$ infectadas. Na pele, uma interação entre os fibroblastos e as células T $\gamma\delta$ causa, por um mecanismo não elucidado, a conversão da infecção persistente em infecção produtiva e lítica. A replicação do vírus resulta em morte celular e replicação do vírus em locais da pele acessíveis à picada de vetores. Os vírus liberados são ingeridos pelos vetores, infectando-os e iniciando um novo ciclo de transmissão.

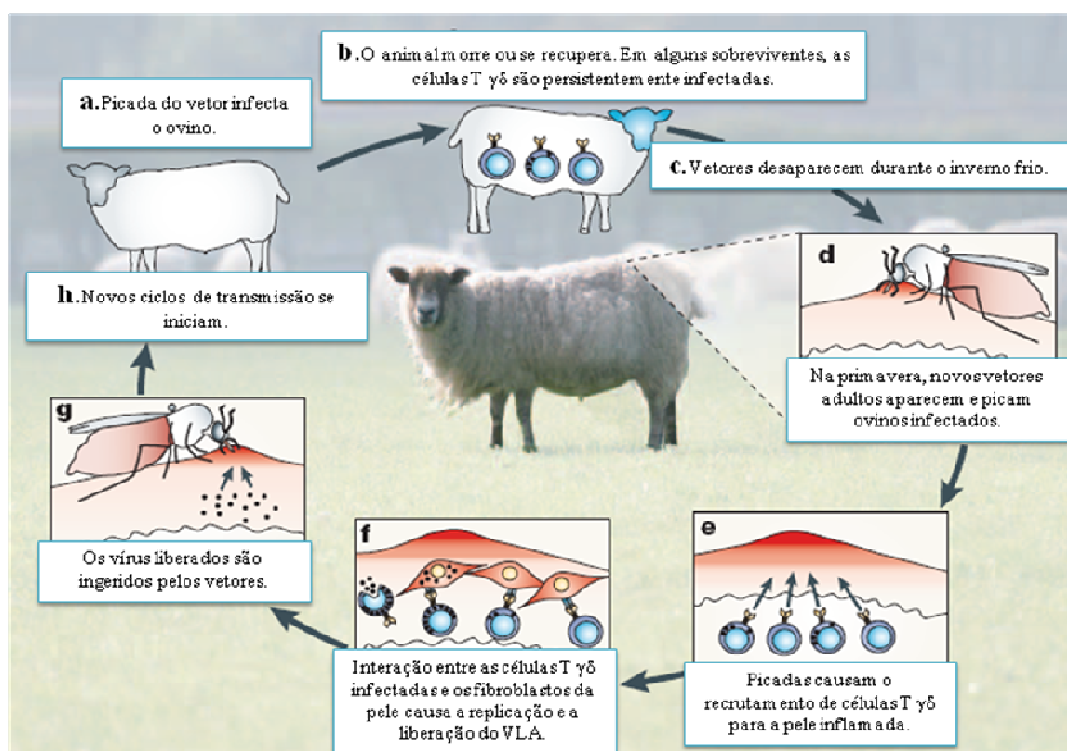


Figura 6. Persistência do vírus da língua azul durante o inverno. Fonte: Purse et al. (2005) adaptado.

Transmissão vertical

O VLA circulante na Europa foi capaz de atravessar a barreira placentária (CLERCQ et al., 2008). A transmissão vertical pelo sorotipo 8 foi confirmada em bovinos, em período sem atividade dos *Culicoides*, obtendo-se bezerros PCR positivos de vacas PCR positivas. Trinta e sete bezerros de 229 vacas soropositivas foram PCR positivos, indicando que a transmissão transplacentária ocorreu a uma taxa de 16,2%, não havendo evidências de contaminação do colostro por BTV-8 (SANTMAN-BERENDS et al., 2010).

O aumento do número de abortamentos relatados em 2007 na Bélgica e o aumento dos casos de hidranencefalia na Bélgica e na Holanda foram associados à infecção transplacentária natural por VLA-8. O RNA viral foi detectado em 41,2% de 68 baços colhidos de fetos bovinos abortados com histórico de suspeita de LA devido a sinais clínicos observados nas vacas durante a gestação. Além disso, o RNA viral foi detectado no baço de 18,5% dos 232 fetos abortados sem suspeitas de LA. Entretanto, evidência de infecção transplacentária não foi observada em cordeiros ao nascimento antes da mamada do colostro (CLERCQ et al., 2008).

Infecção no período inicial da prenhez resulta comumente em abortamento ou natimortos, enquanto que fetos infectados no estágio final da gestação tendem a eliminar o vírus. Infecção no período intermediário, antes do completo desenvolvimento do sistema imune fetal, às vezes resulta em infecção prolongada. Parece que apenas algumas cepas virais possuem a capacidade de transmissão vertical (WILSON et al., 2008).

Infecção fetal em gestação mais avançada resulta no nascimento de bezerros PCR positivos. Assim, uma nova geração de *Culicoides* pode se infectar ao se alimentar nesses bezerros virêmicos e conseqüentemente dar início a um novo ciclo após o

período livre de vetores. Bezerros permaneceram PCR positivos por 5 meses de idade. Bezerros soropositivos oriundos de vacas PCR negativas e soronegativas provavelmente ocorrem devido à alimentação com colostro de vacas soropositivas (SANTMAN-BERENDS et al., 2010).

Além disso, bezerros podem torna-se imunotolerantes, uma vez que foi observado RNA viral em animais sorologicamente negativos. Esses animais imunotolerantes são potenciais disseminadores do vírus. O sucesso do isolamento do vírus em bezerros demonstrou o potencial desses animais em introduzir o VLA em regiões que possuem vetores suscetíveis em atividade (CLERCQ et al., 2008).

Em estações e/ou em áreas com alta atividade de *Culicoides*, a transmissão vertical tem menor importância na disseminação do VLA. Entretanto, em períodos e/ou áreas sem atividade de *Culicoides*, a transmissão vertical possui destaque na rota de transmissão (SANTMAN-BERENDS et al., 2010).

Transmissão venérea

Touros e carneiros infectados podem ocasionalmente liberar vírus no sêmen, possivelmente por causa da contaminação com células sanguíneas e a transmissão venérea pode acontecer. Entretanto, todas as pesquisas sugerem que isso ocorre somente durante o período normal da viremia (WILSON et al., 2008).

2.1.4 Patogênese

Após a entrada através da picada do mosquito infectado, o vírus se desloca para os linfonodos regionais, onde ocorre a replicação inicial nos linfócitos. O vírus então é disseminado para uma variedade de tecidos, replicando-se em fagócitos mononucleares e células endoteliais. Na fase aguda, sinais clínicos estão principalmente associados com

danos nas células endoteliais da microcirculação, devido à lesão vascular causando hipóxia tecidual. A viremia é altamente associada com células sanguíneas, principalmente com eritrócitos. Ela é prolongada, mas não é persistente (MACLACHLAN, 2004; QUINN et al., 2005a; VELLEMA, 2008).

Os sinais clínicos e as lesões refletem a injúria do endotélio vascular mediada pelo vírus, já que o VLA se replica em células endoteliais. A lesão endotelial também é responsável por aumentar a permeabilidade vascular, causando edema. Apesar de a infecção em ruminantes domésticos e selvagens ocorrer em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, a doença é incomum ou não reconhecida em muitas áreas onde o vírus é endêmico. Por exemplo, a infecção por VLA ocorre em extensas regiões do norte e leste da Austrália e surtos da doença ainda não foram descritos (MACLACHLAN, 2004).

As lesões são particularmente evidentes na cavidade oral, ao redor da boca e na coroa do casco e podem ser complicadas por infecção bacteriana secundária (QUINN et al., 2005a). Entretanto, as principais consequências da infecção pelo VLA, tanto para bovinos quanto para ovinos, são as perdas indiretas devido ao abortamento, à queda do desempenho reprodutivo, à perda da condição corporal e à queda na produção de leite, para bovinos, ou convalescença prolongada, para ovinos (TOMICICH et al., 2006).

A doença é mais grave quando ocorre exposição prévia (sensibilização). Em casos esporádicos da doença clínica em bovinos, acredita-se que estejam envolvidas reações de hipersensibilidade do tipo I, com participação de imunoglobulina E (IgE) como um resultado da exposição prévia ao VLA ou a orbivírus relacionados (NAVARRE et al., 2005; QUINN et al., 2005a).

A diferença fundamental da suscetibilidade de células endoteliais de bovinos e ovinos pode explicar a patogênese da infecção no ovino e no bovino. Enquanto que a

infecção em células endoteliais bovinas resultou em ativação endotelial, com aumento da transcrição de genes codificadores de uma variedade de mediadores vasoativos e inflamatórios e aumento da expressão de moléculas de adesão na superfície da célula, infecção similar em células endoteliais ovinas resultou em mínima ativação dessas células (MACLACHLAN, 2004).

2.1.5 Achados clínicos, anátomo-patológicos e histopatológicos

Investigação clínica é um importante passo para o reconhecimento da LA, mas esta ferramenta de diagnóstico não é muito específica. Sinais clínicos apontando infecção por VLA frequentemente ocorrem sem a real infecção (causados por outras enfermidades), tanto em ovinos quanto em bovinos. Por outro lado, o baixo nível de conhecimento sobre a LA complicou o rápido reconhecimento da enfermidade por fazendeiros e veterinários durante a epidemia de 2006, na Europa (ELBERS et al., 2008).

O período de incubação é de cinco a 20 dias. A forma aguda da doença, que ocorre mais comumente em ovinos e alguns cervídeos, caracteriza-se por febre de até 42°C; depressão; inflamação, ulceração, erosão e necrose da mucosa oral (Figura 7); edema e às vezes cianose da língua (Figura 8); laminite devido à coronite; pododermatite; miosite; abortamento; complicações de pneumonia; emagrecimento; morte com oito a 10 dias ou longo período de convalescença com alopecia, esterilidade e retardo de crescimento. A forma inaparente é a mais comum em bovinos e outros ruminantes (OIE, 2008).

Os sinais clínicos associados ao VLA-8 durante a epidemia em 2006, na Holanda, apareceram muito mais proeminentes em ovinos que em bovinos e se expressaram diferentemente em ovinos em comparação com bovinos. Os mais importantes sinais

observados em bovinos foram lesões e crostas na mucosa nasal, erosões nos lábios, crostas dentro ou ao redor das narinas, erosões na mucosa oral, sialorreia, febre, conjuntivite, coronite, necrose muscular e enrijecimento dos membros. Em rebanhos ovinos, foram detectadas principalmente erosões da mucosa oral, febre, sialorreia, edema mandibular, facial e de lábio, apatia e fraqueza, laminite e disfagia (ELBERS et al., 2008).



Figura 7. Lesões na mucosa oral provocadas por infecção pelo vírus da língua azul. Fonte: Enserink (2006).



Figura 8. Sinais clínicos de língua azul em ovino (edema de face; edema, protrusão e cianose de língua; sialorreia). Fonte: Wilson et al. (2008).

Nos EUA, em 1988, vacas de 23 diferentes rebanhos foram acometidas, individualmente, com salivação profusa e abortamento. Outros sinais observados incluíram focinho quente, narinas com crostas, febre, erosões nos lábios, no palato duro e no pulvino dentário, ulcerações na gengiva e na língua, protrusão de língua, anorexia, perda de peso, ferida nos tetos, laminite, coronite, marcha rígida ou incapacidade para levantar e diarreia. O VLA foi isolado do sangue de um animal afetado clinicamente e de tecidos de animais afetados submetidos à necropsia. O vírus também foi demonstrado em fetos bovinos (BALDWIN et al., 1991).

Foram observadas como alterações anátomo-patológicas, ulcerações orais, edema subcutâneo de brando a moderado nos lábios, lesões ulcerativas nos tetos, laminite, coronite, vasos da submucosa proeminentes, hemorragias extensas e irregulares na artéria pulmonar, pequenas hemorragias nos rins, mucosa abomasal edemaciada. Os achados histopatológicos incluíram intensas alterações nos vasos superficiais, incluindo o espessamento do endotélio, algumas vezes ocluindo o lúmen dos pequenos vasos. Também foram observadas áreas perivasculares contendo de pequeno a moderado número de células mononucleares, alguns neutrófilos e pequenas hemorragias. A biópsia do focinho de um animal clinicamente afetado demonstrou edema da submucosa e inflamação (BALDWIN et al., 1991).

Em foco da LA no Brasil, os sinais clínicos observados nos ovinos incluíram temperatura de 39,5 a 40,8°C, depressão, hiperemia da cavidade oral e edema facial, particularmente nos lábios, língua, focinho e região submandibular. Alguns animais apresentaram lacrimejamento e descarga nasal serosa, que se tornou mucopurulenta. Necrose do epitélio das narinas e da extremidade da língua também pôde ser vista. Hiperemia e hemorragia das papilas ruminais e da mucosa omasal estavam presentes no exame *post mortem* de muitos animais afetados. Hemorragias petequiais e congestão

severa também foram observadas na mucosa da faringe e ao redor do esôfago (CLAVIJO et al., 2002).

Em caprinos, a manifestação clínica da doença é bem menos frequente e ocorre de maneira mais branda com elevação da temperatura corporal, anemia leve, podendo haver hiperemia das mucosas conjuntival e nasal (CHAGAS & PINHEIRO, 2003).

Na Suíça, os caprinos positivos com o TOV apresentaram-se clinicamente saudáveis (HOFMANN et al., 2008). Os caprinos experimentalmente infectados com o vírus também não tiveram alterações clínicas, mas apresentaram ao exame histopatológico, hemorragia perivascular na túnica média da artéria pulmonar. Em ovinos, apenas sinais moderados foram observados, além de achados anátomo-patológicos como hemorragia da parede da artéria pulmonar e do endocárdio e petéquias na superfície epicardial (CHAIGNAT et al., 2009).

A forma reprodutiva ou teratogênica da enfermidade é muito variável em função da estirpe, do hospedeiro e dos fatores ambientais. As alterações incluem malformação fetal, abortamento, natimortos, nascimento de animais fracos e “desorientados”, esterilidade temporária e infertilidade de reprodutores. Dentre as anomalias congênitas, pode-se incluir hidranencefalia (LOBATO, 1999; CEBRA & CEBRA, 2005).

Outros sinais clinicopatológicos que auxiliam no diagnóstico da doença incluem leucopenia durante o início do estágio febril e aumento da atividade sérica de creatina-fosfoquinase (CPK), que corresponde à fase de rigidez muscular e claudicação (CEBRA & CEBRA, 2005).

2.1.6 Diagnóstico diferencial

Nos ovinos, a LA pode ser confundida num primeiro instante, com ectima contagioso, pododermatite, fotossensibilização, estomatite vesicular e febre aftosa. Nos

bovinos, deve-se ter em conta que a LA pode ser confundida com febre aftosa, rinotraqueíte infecciosa, febre catarral maligna, enfermidade epizoótica hemorrágica, diarreia viral bovina, estomatite vesicular e fotossensibilização, o que torna o diagnóstico diferencial para estas doenças de suma importância no reconhecimento da LA (LOBATO, 1999; CHAGAS & PINHEIRO, 2003; FIGUEIREDO et al., 2007). Nos EUA, em 1988, em 23 casos de suspeita de LA em vacas, realizou-se o diagnóstico diferencial para estomatite vesicular, diarreia viral bovina e doença hemorrágica epizoótica (BALDWIN et al., 1991).

2.1.7 Diagnóstico laboratorial

Os principais métodos de diagnóstico laboratorial da LA baseiam-se no isolamento do agente, através da inoculação em ovinos, em ovos embrionados ou em cultivos celulares (BHK, MVPK); identificação e tipificação do agente por soroneutralização ou neutralização viral; em testes sorológicos, utilizando-se as técnicas de cELISA, IDGA e fixação de complemento (FC) e através de técnicas de biologia molecular, pelo método de RT-PCR (GROOCOCK & CAMPBELL, 1982; CLAVIJO et al., 2002; LAGER et al., 2004).

O vírus pode ser isolado do sangue, do sêmen ou de tecidos (CEBRA & CEBRA, 2005). Entre os métodos utilizados para o isolamento, a inoculação de material suspeito em ovelhas e em ovos embrionados é o mais sensível. Cultivo de células é ligeiramente menos sensível e inoculação intracerebral em camundongos vem em seguida como o menos sensível. A amostra necessária para o isolamento viral em animais vivos é o sangue. Células sanguíneas colhidas no início da infecção são o material de escolha para o isolamento do VLA. O vírus já foi isolado de eritrócitos, linfócitos, neutrófilos, papa de leucócitos e também de plasma e soro. No caso de necropsia, as amostras a serem

colhidas são baço, fígado, pulmão, medula óssea, sangue do coração e linfonodos, além de abortos (OIE, 2008).

Os exames sorológicos envolvem dois grupos de antígenos virais denominados VP7 e VP2. O primeiro é observado em todos os vírus causadores da doença e o último determina o sorotipo. Normalmente se realizam testes de FC, de IDGA ou ELISA. Um teste de cELISA é considerado o melhor teste sorológico para detecção de grupos de anticorpos contra o VLA (CEBRA & CEBRA, 2005).

A sorologia é uma ferramenta importante no diagnóstico de doenças e tem exercido um importante papel na determinação e distribuição da infecção pelo VLA (KONRAD et al., 2004). De 1968 a 1980, o teste de FC foi amplamente utilizado para diagnóstico e qualificação de animais para exportação. Desde 1980, vem sendo substituído pelo IDGA, que é um método amplamente utilizado para identificação de anticorpos nas diferentes espécies suscetíveis (LOBATO, 1999).

Jochim & Chow (1969) propuseram a utilização do IDGA para o diagnóstico sorológico da doença. Desde então, esta técnica tem sido aprimorada e outras têm surgido. O método de IDGA, apesar de não ser quantitativo, é simples e econômico. Ele identifica anticorpos contra proteínas do VLA, não sendo assim possível identificar qual dos sorotipos infectou o animal.

Mesmo assim, o teste de IDGA é o mais utilizado em levantamentos epidemiológicos (CHAGAS & PINHEIRO, 2003) e tem sido um dos testes-padrões preconizados para certificação de animais com fins de trânsito internacional de ruminantes desde 1982 (OIE, 2008). Ele apresenta uma desvantagem que é a possibilidade de ocorrer reação cruzada com o vírus da doença hemorrágica epizoótica dos cervídeos (AFSHAR et al., 1989; COSTA et al., 2006). Nesse sentido, os testes de

cELISA foram desenvolvidos na tentativa de resolver o problema de reações cruzadas obtidas com o teste de IDGA (CHANDEL et al., 2003).

Existem diferenças apreciáveis entre as soroprevalências detectadas pelos testes de IDGA e cELISA, sendo que este último possui maior sensibilidade e especificidade, utilizando anticorpos monoclonais (SHRINGI & SHRINGI, 2005). A especificidade geral do cELISA foi de 99,85% e do IDGA de 99,14% para bovinos, ovinos e caprinos. A concordância entre esses testes em ovinos foi de 98,46% (AFSHAR et al., 1989).

Uma avaliação conduzida por 23 laboratórios de referência para diagnóstico de LA na Europa, utilizando seis kits comerciais para cELISA, demonstrou que BDSL cELISA e VMRD cELISA são capazes de detectar 24 sorotipos de VLA. Os kits para cELISA avaliados foram o BDSL, VMRD, ID-Vet, Pourquoi, Ingenasa e IZS. Todos foram específicos para o VLA, sendo que dois laboratórios reportaram reações cruzadas com o sorotipo 2 do vírus da doença hemorrágica epizootica com o BDSL cELISA e um laboratório reportou reação cruzada com o sorotipo 1 deste vírus utilizando VMRD cELISA (BATTEN et al., 2008).

Todos os kits detectaram VLA-16 na diluição do soro em 1/25, sendo que o kit BDSL apresentou maior sensibilidade, detectando anticorpos na diluição 1/200. Em ovinos, o kit BDSL detectou anticorpos seis dias pós-infecção (dpi) e em bovinos, sete dpi. O Pourquoi, ID-Vet e VMRD detectaram anticorpos oito dpi em ovinos e nove dpi em bovinos. Espera-se que todos os kits de cELISA sejam capazes de detectar anticorpos em 21 dpi em bovinos e ovinos (BATTEN et al., 2008).

Entre os testes mais utilizados para detecção de anticorpos neutralizantes e sorotipificação estão os de soroneutralização em microplacas (SN) e a inibição de placas (IP). Os testes de neutralização são sorotipo-específicos e possuem alta sensibilidade e especificidade, requerendo geralmente três a cinco dias para o resultado. Quando

utilizados para determinação do sorotipo específico, reações cruzadas podem ocorrer entre vários sorotipos, dificultando o resultado preciso (LOBATO, 1999).

Os testes de PCR para a enfermidade se tornaram recentemente disponíveis e são muito sensíveis e específicos (CEBRA & CEBRA, 2005). A análise dos testes de RT-PCR em tempo real desenvolvidos no Reino Unido, França, Bélgica, Holanda, Alemanha e Itália demonstrou extrema sensibilidade, detectando RNA com três dpi em ovinos. Em bovinos, todos os laboratórios detectaram RNA em até cinco dpi (BATTEN et al., 2008). Para esta técnica, geralmente iniciadores com sequências de nucleotídeos que codificam para proteína VP3, altamente conservada entre os sorotipos, têm sido utilizados (LOBATO, 1999).

2.1.8 Tratamento, controle e profilaxia

O tratamento é inespecífico e consiste em cuidados de suporte. Por causa da relutância dos animais em se alimentarem devido às lesões na mucosa oral, deve-se fornecer alimentos via sonda oroesofágica ou estimulá-los a consumir alimentos macios ou gramíneas verdes. Frequentemente se utilizam drogas antimicrobianas de amplo espectro para o tratamento de pneumonia e dermatite secundárias. Os animais devem ser mantidos em camas macias, em piso adequado, com fácil disponibilidade de água e sombra. Comumente são administrados anti-inflamatórios não-esteróides. No entanto, em casos de LA, para o controle da enfermidade, indica-se o sacrifício dos animais (CEBRA & CEBRA, 2005).

De acordo com a OIE, a LA é uma doença notificável, cujo impacto econômico decorre não apenas das perdas diretas nos rebanhos afetados, mas também das restrições econômicas impostas por países importadores (COSTA et al., 2006).

A profilaxia da LA em áreas livres da doença é baseada principalmente na restrição de movimento de animais, seguindo rígidas regras de importação e quarentena, geralmente acompanhada de duas sorologias. Uma vez instalada em região livre, o diagnóstico rápido associado ao sacrifício, desinfecção rigorosa e controle de vetores são as medidas a serem adotadas. Porém, como a LA pode ser uma doença “silenciosa”, o vírus pode se disseminar sem que se perceba. Uma vez estabelecida de forma endêmica, a possibilidade de erradicação da LA é praticamente nula. Assim, as medidas a serem adotadas visam minimizar os prejuízos da doença clínica (LOBATO, 1999).

No Brasil, existem instruções normativas que regulamentam a importação de animais e sêmen para evitar a entrada de agentes infecciosos. A importação de caprinos e ovinos, por exemplo, requer o isolamento dos mesmos durante um período de trinta dias antes do embarque, em instalações aprovadas e sob supervisão oficial. Durante a quarentena, os animais são submetidos a provas diagnósticas para febre aftosa, brucelose, língua azul e lentivirose de pequenos ruminantes, realizadas em laboratório oficial ou credenciado pelos serviços veterinários oficiais. Para o diagnóstico da LA, realizam-se provas de IDGA ou ELISA (BRASIL, 2002; BRASIL, 2003).

Toda a importação de sêmen no Brasil deverá ser previamente autorizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). O sêmen deverá ser coletado em Centro de Coleta e Processamento de Sêmen (CCPS), registrado e aprovado pelo Serviço Veterinário Oficial do país exportador. Os doadores de sêmen deverão ser nascidos e criados no país exportador ou ter permanecido naquele por um período mínimo de sessenta dias antes da colheita do sêmen. Os doadores não devem apresentar nenhuma evidência clínica de doença transmissível pelo sêmen nos trinta dias anteriores à colheita, no dia da colheita, bem como nos trinta dias subsequentes à colheita. A colheita de material para realização dos exames laboratoriais requeridos pelo

MAPA deverá ser supervisionada por veterinário oficial ou credenciado pelo Serviço Veterinário Oficial. Os testes de diagnóstico requeridos deverão ser realizados em laboratório oficial ou em laboratório aprovado pelo Serviço Veterinário Oficial do país exportador (BRASIL, 2007).

Dentre as provas diagnósticas exigidas para a importação de sêmen no Brasil, destacam-se as realizadas para a LA. Deve-se submeter uma amostra de soro sanguíneo de cada doador de sêmen ao teste de IDGA ou ELISA com resultados negativos no dia da primeira coleta do sêmen e novamente entre trinta e sessenta dias após a última coleta do sêmen. Outras alternativas consistem em submeter uma amostra de sangue total de cada doador do sêmen, coletada a cada 28 dias, ao teste de PCR ou submeter uma alíquota de sêmen congelado de cada partida destinada à exportação à prova de PCR, com resultado negativo (BRASIL, 2007).

Medidas primárias de controle são baseadas no combate a insetos vetores em áreas afetadas (ROY et al., 2009). Entretanto, o controle da doença a partir da eliminação do mosquito-pólvora é difícil, de modo que os proprietários devem se esforçar para eliminar áreas de procriação desses vetores, como o transbordamento de bebedouros, além de limitar a exposição de animais aos mosquitos mediante a aspersão de repelentes (CEBRA & CEBRA, 2005).

Para a redução da população dos vetores, os pesticidas podem ser aplicados diretamente no hospedeiro ou na fase aquática, visando à destruição de larvas. Embora o uso de pesticidas possa ser efetivo em áreas restritas, a tentativa de controlar *Culicoides* desta maneira não se mostra prática para o uso rotineiro, podendo causar problemas ambientais e certamente é muito dispendiosa. Além disso, depende dos conhecimentos do ciclo biológico, população e dinâmica dos mosquitos na região, aplicação em época certa e com boas condições climáticas (LOBATO, 1999).

Vacinas contra o VLA podem ser utilizadas para diferentes finalidades e estratégias, dependendo da situação epidemiológica da área afetada. Os objetivos das estratégias de vacinação são prevenir a doença clínica, limitar a extensão regional da infecção por VLA através da redução da disseminação do vírus, erradicar a doença através da redução da circulação viral e obter autorização para movimentação segura de animais suscetíveis entre zonas afetadas e livres (SAVINI et al., 2008).

O uso da imunoprofilaxia ativa nas áreas onde a LA causa problemas é a medida mais lógica, porém a disponibilidade de uma vacina eficiente e segura é um desafio. A vacinação visa reduzir as perdas econômicas causadas pela doença e o número de animais suscetíveis, diminuindo assim o número de animais virêmicos após a infecção (LOBATO, 1999).

Vacinas de vírus inativado são muito seguras quando produzidas corretamente. Possui como desvantagens os altos custos de produção com a grande quantidade de antígeno requerida para a produção e a necessidade de imunização de reforço, uma vez que vacinas inativadas geralmente induzem uma imunidade relativamente passageira. Com isso, uma segunda dose é necessária para induzir uma resposta humoral maior e mais estável. As vacinas inativadas demonstraram boa tolerância, com ausência de reações sistêmicas nos animais vacinados. Algumas vacinas induzem reações locais passageiras (SAVINI et al., 2008; ROY et al., 2009).

As vacinas de vírus atenuado estimulam uma forte resposta imune humoral relacionada com a capacidade de replicação no hospedeiro vacinado. São vacinas acessíveis para a produção em larga escala, estabelecendo em geral imunidade protetora após uma única inoculação e tem eficácia comprovada em prevenir a doença nas áreas em que são utilizadas (SAVINI et al., 2008).

Entretanto, essas vacinas possuem efeitos adversos potenciais, como queda na produção de leite. A vacina deve ser aplicada, pelo menos, duas semanas antes da estação de acasalamento. As fêmeas gestantes não devem ser vacinadas com vírus atenuado, que pode ser teratogênico no início da prenhez e apresenta leve risco para abortamento no final da gestação. Carneiros reprodutores vacinados podem apresentar ligeiro risco de redução da fertilidade. Eles podem ser vacinados em caso de surto. As vacinas vivas modificadas com estirpes e sorotipos locais estão disponíveis em alguns países. Pode ocorrer algum grau de proteção cruzada entre os sorotipos (CEBRA & CEBRA, 2005; NAVARRE et al., 2005; ROY et al., 2009).

Existe a possibilidade de haver recombinação genética entre a cepa vacinal atenuada e o vírus circulante em um mesmo animal co-infectado. Outro risco da utilização da vacina atenuada está associado com o potencial de disseminação por vetores, com eventual reversão da virulência ou reativação de genes com cepas virais do tipo selvagem. Por isso, recomenda-se o uso da vacina de vírus atenuado em meses frios, quando a atividade da população de *Culicoides* ocorre em baixos níveis, limitando a possibilidade de transmissão das cepas vacinais. A transmissão de cepas vacinais para mosquitos pode ocorrer quando animais virêmicos são introduzidos em áreas livres da infecção, com presença de vetores competentes. Sendo assim, a magnitude e a duração da viremia em animais vacinados são importantes no caso de transmissão de cepas vacinais para vetores locais (SAVINI et al., 2008; ROY et al., 2009).

Para as propostas de erradicação, o sucesso da campanha de vacinação deve abranger todas as espécies de ruminantes suscetíveis, atingindo um alto nível de imunidade nos rebanhos, cercando as áreas em casos de surtos. O sucesso do controle também requer a restrição da movimentação entre áreas afetadas e zonas livres (SAVINI et al., 2008). Levando-se em consideração os efeitos adversos das vacinas de

vírus atenuado, estas não são adequadas para um programa de erradicação da LA (ROY et al., 2009).

Apesar de modelos de risco integrando fatores determinantes para a persistência do VLA serem necessários, parece que a erradicação do vírus com vacina pode ser executável somente em condições geoclimáticas favoráveis para a limitação da atividade do vetor e prevenção da circulação viral: inverno rigoroso, barreiras geográficas e baixa densidade do vetor (SAVINI et al., 2008)

Devido à grande variedade de sorotipos existentes, a escolha da vacina deve ocorrer em função daqueles que são predominantes na região, com no máximo três sorotipos por dose. Assim, é primordial, antes mesmo do desenvolvimento de vacinas, o levantamento da distribuição dos diferentes sorotipos em uma região. A vacina não tem sido aplicada em bovinos em função da menor frequência com que ocorrem as manifestações clínicas. Mas em países onde se utilizam vacinas, os bovinos são utilizados como rebanho sentinela. A vacinação não é adotada no Brasil. A opção de não vacinar deve ser tomada levando-se em consideração que o vírus se torna endêmico em áreas onde o clima permanece favorável (CHAGAS & PINHEIRO, 2003).

A escassez de dados relativos aos sorotipos do vírus da LA existentes no Brasil e as suas distribuições nos diferentes estados dificultam o controle e a adoção de medidas que evitem a introdução de novos sorotipos no país ou em áreas específicas. Os resultados apontando a alta ocorrência de animais soropositivos em alguns estados brasileiros levantam preocupações devido à importância econômica da doença e ao fato de ser uma enfermidade de notificação obrigatória, causando um efeito negativo para o comércio de animais e subprodutos de origem animal. Observa-se, com isso, a necessidade de se cumprir as regras de importação e de se tomar os cuidados na introdução de animais vivos (COSTA et al., 2006; ALVES et al., 2009).

A partir do momento que a existência do vírus é comprovada, deveria haver a preocupação de que, embora muitas espécies não manifestem sinais clínicos, existe a possibilidade de haver alterações na patogenicidade do vírus, através de mutações, por exemplo, com conseqüente ocorrência da doença nos rebanhos (CHAGAS & PINHEIRO, 2003).

2.2 Brucelose ovina causada por *Brucella ovis*

2.2.1 Etiologia

A brucelose é uma enfermidade causada por espécies de bactérias do gênero *Brucella*, algumas de caráter zoonótico (Tabela 2). Trata-se de uma doença de importância mundial que acomete várias espécies animais (RADOSTITS et al., 2002; QUINN et al., 2005b).

Tabela 2. Espécies do gênero *Brucella* e seus hospedeiros.

Espécies	Hospedeiros comuns	Espécies animais ocasionalmente infectadas
<i>B. abortus</i>	Bovino	Ovinos, caprinos, suínos, equinos, humanos
<i>B. melitensis</i>	Caprinos e ovinos	Bovinos e humanos
<i>B. suis</i>	Suínos	Humanos
<i>B. ovis</i>	Ovinos	-
<i>B. canis</i>	Cães	Humanos
<i>B. neotomae</i>	Ratos do deserto	-

Fonte: Quinn et al. (2005b) modificada.

Evidências genéticas e imunológicas sugerem que todos os membros do gênero *Brucella* estão intimamente relacionados e muitos microbiologistas têm proposto a reclassificação em uma espécie única (*Brucella melitensis*) com diversos biovars. Esta proposta é controversa. Por razões práticas, contudo, é admissível o uso do nome de brucelas anteriormente consideradas como espécies. Essas exibem preferências por hospedeiros e diferem quanto à gravidade da doença causada (CFSPH, 2010).

As espécies de *Brucella* são pequenas bactérias gram-negativas (0,5 a 0,7 μm X 0,6 a 1,5 μm), não capsuladas, não esporuladas, cocobacilares, imóveis e como não descoram pelo ácido acético a 0,5% na técnica de coloração de Ziehl-Neelsen modificada (ZNM), são classificadas como ZNM-positivas (WALKER, 2003).

As brucelas nas quais falta a cadeia lateral de polissacarídeo no lipopolissacarídeo de membrana externa produzem colônias rugosas e são menos virulentas do que

aquelas derivadas de colônias lisas. Em isolamento primário, colônias de *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* e *B. neotomae* ocorrem como formas lisas. Ao contrário, os isolados primários de *B. ovis* e de *B. canis* sempre ocorrem na forma rugosa. Essas colônias rugosas são secas, amareladas, opacas e friáveis. (QUINN et al., 2005b).

A *B. ovis* tem denotado uma grande importância devido ao aumento da criação de ovinos em todo o mundo e do conhecimento sobre a sua disseminação nos rebanhos (LIRA & MEGID, 2009).

É um microrganismo não zoonótico, intracelular facultativo, que provoca doença crônica em ovinos conhecida como epididimite contagiosa dos carneiros. Esta enfermidade infecciosa possui distribuição mundial, causando grande impacto negativo nos países onde a ovinocultura é uma atividade econômica importante. Isto ocorre devido à queda na fertilidade do rebanho, ao aumento no descarte de carneiros infectados, redução na vida reprodutiva dos machos, abortamentos, aumento da mortalidade perinatal bem como complicações no manejo e restrições no comércio (FICAPAL et al., 1998; ESTEIN, 1999; QUISPE et al., 2002).

A *Brucella* sobrevive a congelamento e descongelamento. Em condições ambientais propícias, sobrevive por até quatro meses em leite, urina, água e solo úmido (WALKER, 2003). São facilmente destruídas pela maioria dos desinfetantes comuns, incluindo soluções de hipoclorito, etanol a 70%, isopropanol, iodóforos, desinfetantes fenólicos, formaldeídos, glutaraldeído e xileno. Entretanto, matéria orgânica e baixas temperaturas diminuem a eficácia desses produtos. Desinfetantes utilizados em superfícies contaminadas incluem hipoclorito de sódio a 2,5%, soda cáustica a 2-3% e solução de formaldeído a 2%. Compostos de amônia quaternária não são recomendados. Autoclavagem pode ser utilizada para destruir *Brucella* em equipamentos contaminados (121°C por, no mínimo, 15 minutos). Esses microrganismos também podem ser

inativados por calor seco (160-170°C por, no mínimo, uma hora). Fervura por 10 minutos é efetiva para líquidos. O agente pode ser também inativado pela pasteurização (CFSPH, 2010).

2.2.2 Histórico

Na Nova Zelândia, em 1953, uma doença genital de ovinos, caracterizada por diminuição da fertilidade em carneiros, abortamento em ovelhas e mortalidade neonatal estava sendo associada a microrganismos do gênero *Brucella*. Microrganismos idênticos também tinham sido isolados em carneiros na Austrália. As cepas, tanto da Nova Zelândia como da Austrália, foram analisadas e com base na morfologia celular e colonial, propriedades bioquímicas e patogenicidade para animais de laboratório e para os hospedeiros naturais, foram classificadas como pertencentes ao gênero *Brucella*. Entretanto, notou-se que essas cepas eram distintas de outros grupos de *Brucella* já estabelecidos, o que justificou a constituição de uma nova espécie, a *B. ovis*. (BUDDLE, 1956).

No Brasil, os primeiros relatos de *B. ovis* ocorreram no Rio Grande do Sul, onde Ramos et al. (1966) descreveram uma enfermidade como de localização predominantemente genital, afetando machos e fêmeas, sendo que o sintoma de maior evidência no macho era a inflamação do epidídimo, principalmente na cauda do órgão. De 3.317 reprodutores avaliados clinicamente, 361 apresentaram anormalidades à palpação da bolsa escrotal, sendo que 220 foram considerados clinicamente com epididimite. A frequência de azoospermia e de outras anormalidades do sêmen ocorreu na grande maioria dos casos examinados e nos quais as lesões eram bem evidentes. Posteriormente, Blobel et al. (1972) efetuaram o isolamento e a identificação da *B. ovis* nos epidídimos.

A existência da epididimite ovina no Brasil já era suspeita há algum tempo, em virtude das correntes migratórias procedentes dos países nos quais a doença já fora diagnosticada. Sendo assim, a sua identificação poderia explicar, pelo menos em parte, as causas da baixa fertilidade de alguns rebanhos, notadamente da raça Romney Marsh. Além disso, haviam sido assinaladas mortalidades de cordeiros, mesmo nascidos em época favorável, que faziam suspeitar da interferência de uma causa infecciosa. O mesmo acontecia no que diz respeito a natimortos e abortamentos no último período da gestação (RAMOS et al., 1966).

2.2.3 Epidemiologia

Distribuição

A brucelose ovina é uma doença de distribuição mundial que provoca impacto negativo nos países onde a criação de ovinos é uma atividade econômica importante (ROBLES et al., 1998). A *B. ovis* já foi relatada na Austrália, Nova Zelândia, Norte e Sul da América, Ásia Central, África do Sul e em muitos países da Europa. Provavelmente ela ocorra nas principais regiões produtoras de ovinos do mundo (RADOSTITS et al., 2002; CFSPH, 2010). Na América do Sul, a epididimite contagiosa constitui um problema muito importante na Argentina, Uruguai, Chile, Peru e sul do Brasil (QUISPE et al., 2002; ESTEIN, 1999).

A Tabela 3 apresenta os resultados de estudos sorológicos para *B. ovis* conduzidos em várias regiões de diferentes estados brasileiros, em rebanhos ovinos.

Estudo conduzido em 14 municípios do Rio Grande do Norte apontou 13 municípios com rebanhos positivos para *B. ovis*. Foram testados 290 ovinos oriundos de 30 propriedades, sendo que 103 (34%) foram reagentes na técnica de IDGA. Os autores justificaram a alta prevalência observada com a não adoção de métodos de controle,

como eliminação de carneiros positivos e separação de machos jovens e adultos (SILVA et al., 2003).

Tabela 3. Frequência de animais soropositivos para *Brucella ovis* em estudos conduzidos com rebanhos ovinos em diferentes regiões do país.

Estado	Animais soropositivos	Método	Autores
Rio Grande do Norte	34% (103/290)	IDGA* ¹	Silva et al. (2003)
	11,3% (13/115)	IDGA	Azevedo et al. (2004)
Paraíba	5,57% (28/498)	IDGA e FC* ²	Clementino et al. (2007)
	7,5% (6/80)	IDGA	Alves et al. (2010)
Pernambuco	16,25% (26/160)	IDGA	Coletto et al. (2003)
Alagoas	3,1% (18/579)	IDGA	Pinheiro Junior et al. (2009)
Bahia	3,28% (6/183)	IDGA	Silva et al. (2009)
São Paulo	0% (0/850)	IDGA e FC	Marinho & Mathias (1996)
	12% (124/1.033)	IDGA	Nozaki et al. (2004)
	1,96% (4/204)	IDGA	Rizzo et al. (2009)
Santa Catarina	0% (0/69)	IDGA	Schäfer et al. (1997)
Rio Grande do Sul	13,43% (220/1.638)	IDGA	Magalhães Neto & Gil-Turnes (1996)

*IDGA=imunodifusão em gel de ágar

*²FC=fixação de complemento

Também no Rio Grande do Norte, dos 115 soros de ovinos oriundos de 11 rebanhos, 13 (11,3%) foram positivos. Os soros foram testados pela prova de IDGA. A avaliação clínica realizada nos machos não revelou alterações nos epidídimos sugestivas de brucelose. Entretanto, segundo os autores, de forma a prevenir a propagação do agente infeccioso, medidas sanitárias devem ser adotadas nas propriedades, como o exame clínico e sorológico de qualquer animal a ser introduzido nos planteis e eliminação dos positivos (AZEVEDO et al., 2004).

Clementino et al. (2007) relataram que 8,59% (25/283) das propriedades investigadas nas mesorregiões Sertão Paraibano e Borborema apresentaram um ou mais

carneiros soropositivos para *B. ovis* pelo teste de IDGA e FC. A prevalência de carneiros soropositivos foi de 5,57% (28/498). O teste de IDGA foi utilizado como prova de triagem e o teste de FC foi a prova confirmatória.

Também na Paraíba, o soro de 80 ovinos foi colhido antes do abate dos animais no frigorífico público do município de Patos. A sorologia por IDGA revelou seis animais positivos (7,5%). Todos os animais foram negativos para *B. abortus* pela prova de soraglutinação em placa com antígeno acidificado tamponado corado por Rosa Bengala (TAAT). Além disso, cultura microbiológica e PCR foram realizados a partir de amostras de testículo, epidídimo e útero. Um animal soropositivo também teve a cultura de swab uterino positiva e o teste de PCR foi capaz de amplificar o DNA de *Brucella* spp. das amostras de testículo, epidídimo e útero dos animais positivos ao IDGA (ALVES et al., 2010).

Em Pernambuco, Coletto et al. (2003), através de testes de IDGA, verificaram a frequência de 16,25% (26/160) de soropositivos em seis municípios estudados. Ao exame clínico do sistema genital, não foram constatadas alterações. Entretanto, nas fêmeas, foram relatados casos de abortamentos e nascimento de animais debilitados.

De 23 municípios estudados do estado de Alagoas, 43,5% apresentaram animais soropositivos e dos 27 rebanhos amostrados, 37% possuíram pelo menos um animal reagente. Do total de 579 ovinos testados com a prova de IDGA, 18 (3,1%) foram positivos. Esses valores obtidos foram superiores aos constatados em outros estados, sugerindo a existência de fatores favoráveis à disseminação do agente. Apesar da ocorrência de poucos animais infectados por rebanho estudado, segundo os autores, este resultado é preocupante do ponto de vista epidemiológico e sugere que a infecção seja endêmica nesses rebanhos. Nas propriedades onde os animais positivos eram mantidos, apesar de não terem sido observados sinais clínicos, houve registros de distúrbios

reprodutivos, com associação estatisticamente significativa (PINHEIRO JUNIOR et al., 2009).

No recôncavo baiano, Silva et al. (2009) observaram a frequência de 3,28% (6/183) de ovinos soropositivos para *B. ovis*, através do teste sorológico de IDGA. Entretanto, o exame clínico realizado nos machos não revelou alterações nos epidídimos. Todos os animais foram negativos para *B. abortus* pelo TAAT. Os autores ressaltaram que os resultados da sorologia demonstram a presença da infecção nos rebanhos comerciais de ovinos do estado, tornando necessária a condução de estudos mais amplos, com amostragens significativas da população-alvo, além do atendimento às medidas sanitárias de controle e prevenção da brucelose ovina, evitando a sua propagação.

Em São Paulo, Marinho & Mathias (1996) não observaram animais soropositivos utilizando as provas de IDGA e FC, com uma amostragem de 850 animais, em 18 rebanhos situados em 15 municípios. Por outro lado, nove (1,96%) dos ovinos examinados apresentaram resultados positivos no teste de ELISA indireto. Entretanto, a partir da combinação dos três testes sorológicos, da ausência de sinais clínicos e histórico de sintomatologia nos rebanhos estudados, os autores concluíram que nenhum dos animais estava infectado.

Também em São Paulo, a partir de uma amostragem de 1.033 animais oriundos de 11 cabanhas localizadas nos municípios de Botucatu, Jaú, Bauru e Avaré, identificou-se 124 soropositivos (12%) utilizando-se a prova de IDGA. Os animais não apresentaram sinais clínicos da enfermidade e todos foram negativos para *B. abortus* pelo TAAT (NOZAKI et al., 2004). Novamente em São Paulo, em 19 municípios, Rizzo et al. (2009) detectaram a frequência de 1,96% (4/204) de ovinos soropositivos com histórico de distúrbios reprodutivos oriundos de 26 propriedades. Essas amostras também foram

testadas por IDGA. Todos os animais positivos foram fêmeas e dentre estas, três possuíam histórico de abortamento e uma, queixa de repetição de cio.

Em Santa Catarina, no município de Lages, uma amostragem de 69 carneiros em 20 propriedades não registrou animais soropositivos, utilizando-se a metodologia de IDGA. Entretanto, o exame clínico dos animais demonstrou que 18,84% (13/69) possuíam alterações nos órgãos reprodutivos e destes, 8,7% (6/69) apresentavam lesões epididimárias, que podem comprometer a eficiência reprodutiva, ressaltando-se que a *B. ovis* não é o único agente etiológico da epididimite. Esses dados, segundo os autores do trabalho, demonstram a importância dos exames periódicos nos animais destinados à reprodução (SCHÄFER et al., 1997).

Magalhães Neto & Gil-Turnes (1996) observaram, no Rio Grande do Sul, que dos 1.638 ovinos machos estudados em 76 estabelecimentos de 20 municípios, 13,43% (220/1638) tiveram anticorpos contra *B. ovis* e 9,77% (120/1638) apresentaram manifestações clínicas de epididimite. A sorologia foi realizada pela técnica de IDGA.

Transmissão

A *B. ovis* infecta de forma natural exclusivamente a espécie ovina, sendo o macho o mais suscetível. A infecção bacteriana é transmitida por secreções e/ou excreções corporais que contaminam pastos e fontes de água e fundamentalmente durante a monta, através de sêmen. Com isso, o carneiro infectado é a fonte de infecção que perpetua a doença em um rebanho (ESTEIN, 1999; QUISPE et al., 2002).

No macho, a *B. ovis* pode ser eliminada pelo sêmen (FICAPAL et al., 1998) e nas fêmeas, por secreções vaginais e uterinas, placenta, lóquio (ESTEIN, 1999) e pelo leite (GRILLÓ et al., 1999).

Experimentalmente, há um período de incubação de aproximadamente quatro a seis semanas, tempo em que um animal infectado começa a eliminar a bactéria pelo sêmen. As lesões se manifestam a partir da nona semana pós-infecção (QUISPE et al., 2002).

Há excreção de *B. ovis* pela vagina na primeira gestação e pelo leite na primeira lactação. Entretanto, na gestação seguinte, não se observa a excreção do agente pela vagina, mas algumas ovelhas eliminam *B. ovis* pelo leite na segunda lactação (GRILLÓ et al., 1999).

A infecção é aparentemente menos persistente em ovelhas que em carneiros (BUDDLE, 1956), já que elevado percentual de carneiros continuam eliminando o agente intermitentemente pelo sêmen por dois a quatro anos, ou mais, às vezes sem apresentar sinais clínicos (CFSPH, 2010).

O microrganismo pode ser isolado do sêmen de carneiros naturalmente ou experimentalmente infectados mesmo na ausência de lesões palpáveis (BUDDLE, 1956). Além disso, infecções podem ocorrer nos órgãos sexuais acessórios sem haver lesões nos testículos ou nos epidídimos, também permitindo a disseminação dos microrganismos por meio do sêmen (WALKER, 2003).

A transmissão perinatal pode acontecer através do colostro e do leite, uma vez que a infecção da glândula mamária leva à eliminação de *B. ovis*, o que pode contribuir para a manutenção da bactéria no rebanho sem a intervenção direta do reprodutor (GRILLÓ et al., 1999).

Os cordeiros nascidos fracos devido à placentite e a outras alterações oriundas da infecção por *B. ovis*, quando sobrevivem, podem ser potenciais portadores do agente, com possibilidades de desenvolver a enfermidade quando chegar à puberdade (ESTEIN, 1999).

Em um grupo de 40 ovelhas inoculadas com *B. ovis* durante a primeira gestação, foram observados apenas dois casos de abortamentos e quatro de natimortos. De 57 cordeiros nascidos, 11 morreram antes do desmame, sendo que em apenas um deles, que morreu após 10 dias de nascido, verificou-se severa infecção por *B. ovis*. Outros 27 cordeiros apresentaram sorologia positiva. Os 46 cordeiros sobreviventes foram abatidos com idade entre 13 e 15 meses e não foi isolado *B. ovis* de nenhum dos animais. Isto foi surpreendente, pois apesar de severos danos placentários e da mamada de leite infectado, a maior parte dos cordeiros morreu antes do desmame ou chegou à idade adulta sem sinais clínicos da enfermidade ou mesmo sem infecção latente. Diversos fatores podem ser considerados para explicar a baixa capacidade infectante da *B. ovis* para cordeiros e a ausência de indução de infecções latentes, sendo um deles o efeito dos anticorpos colostrais para prevenir a infecção (GRILLÓ et al., 1999).

A transmissão de macho a macho pode ocorrer ao saltarem uns sobre os outros (RAMOS et al., 1966). Esse tipo de transmissão foi demonstrado durante estações de monta e quando os carneiros são mantidos juntos, isolados das ovelhas (BUDDLE, 1956), cheirando e lambendo o prepúcio um dos outros (RADOSTITS et al., 2002). A conduta homossexual dos machos favorece a entrada do microrganismo através da mucosa retal, por sodomia (QUISPE et al., 2002).

Além disso, a bactéria pode ser transmitida de carneiro para carneiro passivamente por via venérea, pelas ovelhas (infecção venérea passiva). As ovelhas podem carrear o microrganismo na vagina por no mínimo dois meses, agindo assim como vetores mecânicos. Algumas podem tornar-se infectadas (CFSPH, 2010).

O contágio de carneiros virgens pode ocorrer em períodos de estabulação prolongada através do contato com urina de animais infectados. Nestas condições, as

portas de entrada são mucosa nasal, oral, conjuntival ou por via percutânea através de feridas e escoriações (ESTEIN, 1999).

A inoculação experimental via mucosa foi muito efetiva no estabelecimento da doença, com alto percentual de carneiros com titulação positiva para *B. ovis*, isolamento do agente no sêmen e tecidos genitais, além de indução de lesões típicas. Anticorpos específicos foram detectados por FC na segunda semana após a inoculação conjuntival ou prepucial e o percentual de animais soropositivos decresceu progressivamente até a 40^a (conjuntival) e 30^a (prepucial) semana pós-infecção (PAOLICCHI et al., 2000).

A contaminação de pastagens parece não ter importância na transmissão da *B. ovis* (CFSPH, 2010), apesar de o microrganismo poder sobreviver no pasto por vários meses (RADOSTITS et al., 2002).

Fatores predisponentes

Em geral, somente os ovinos são acometidos. Os caprinos podem ser infectados experimentalmente, levando ao desenvolvimento de uma epididimite, mas não há evidência de infecção natural nos caprinos, mesmo nos que vivem com os ovinos infectados (RADOSTITS et al., 2002).

Não houve associação entre a soropositividade à *B. ovis* e o contato de ovinos com outras espécies. Isso por que a maioria dos animais que entram em contato com ovinos são domésticos, como caprinos, bovinos, cães, aves, equídeos e suínos e não há relato de transmissão natural dessa bactéria de ovinos para outras espécies domésticas (CLEMENTINO et al., 2007).

Em inquérito soroepidemiológico de *B. ovis* no semiárido paraibano, as propriedades cuja principal atividade era a bovinocultura apresentaram soropositividade estatisticamente superior, uma vez que, quando a ovinocaprinocultura é a atividade

principal, os cuidados com o rebanho são maiores. Além disso, as propriedades onde a higienização das instalações era realizada diária, semanal e/ou mensalmente, não apresentaram animais soropositivos, ao contrário das propriedades que não higienizavam ou a faziam semestral ou anualmente (CLEMENTINO et al., 2007).

No Rio Grande do Sul, verificou-se maior soropositividade em animais mantidos em regime de cabanha que nos mantidos a campo e isso pode ter acontecido devido aos fatores de manejo, como maior concentração em espaços reduzidos (MAGALHÃES NETO & GIL-TURNES, 1996). Entretanto, em Alagoas, comparando-se a soropositividade com os tipos de sistema de criação extensivo, semi-intensivo e intensivo, observou que o sistema extensivo foi o mais implicado (PINHEIRO JUNIOR et al., 2009).

Já em outro estudo, na Paraíba, não foi observada diferença significativa entre os animais criados de forma extensiva e os criados de forma intensiva/semi-intensiva, apesar de a *odds ratio* ter demonstrado que os animais do sistema extensivo tinham duas vezes mais risco de contraírem a infecção. Isso pode estar associado ao tamanho das explorações, uma vez que rebanhos menores possibilitam a identificação mais fácil e eliminação de reprodutores com lesões escrotais (CLEMENTINO et al., 2007).

Na Espanha, não foi observada diferença estatística significativa de soropositividade entre rebanhos pequenos ou médios e grandes. Isto pode ser explicado, em parte, pelo fato de os proprietários dos grandes rebanhos possuírem maior nível técnico e melhores práticas de manejo (FICAPAL et al., 1998).

Uma importante rota para a introdução de *B. ovis* nos rebanhos é a aquisição de animais sem qualquer avaliação da sanidade. Sendo assim, espera-se que propriedades que comercializem ovinos com maior frequência possuam maior ocorrência de animais soropositivos. Da mesma forma, aglomerações de animais no mesmo curral, como

ocorrem em exposições, o comportamento homossexual e a troca/comercialização dos mesmos representam um fator de risco importante para a disseminação de *B. ovis*. (CLEMENTINO et al., 2007).

Muitos trabalhos demonstram a tendência de haver maior soropositividade em animais adultos (SILVA et al., 2003; PINHEIRO JUNIOR et al., 2009). A soropositividade e as manifestações clínicas foram quatro vezes maiores nos animais com mais de quatro anos de idade quando comparados com animais de um ano de idade (MAGALHÃES NETO & GIL-TURNES, 1996). Entretanto, nem sempre existe a associação significativa entre frequência de animais positivos e faixa etária (AZEVEDO et al., 2004; SILVA et al., 2009).

A epididimite por *B. ovis* é uma enfermidade principalmente de carneiros adultos com experiência sexual prévia (ROBLES et al., 1998). Animais muito jovens, com pouca experiência sexual ou animais mais velhos, com atividade sexual diminuída, são menos expostos à infecção (FICAPAL et al., 1998). A ocorrência de animais soropositivos com menos de um ano de idade pode ser explicada pela transmissão através do leite de ovelhas infectadas (CLEMENTINO et al., 2007) ou pela ocorrência de anticorpos colostrais (GRILLÓ et al., 1999).

Não foi observada associação significativa entre a frequência de animais positivos e o sexo. Ou seja, machos e fêmeas estariam igualmente expostos (AZEVEDO et al., 2004; SILVA et al., 2003; SILVA et al., 2009). Apesar disso, a partir de uma análise da soropositividade segundo o sexo dos animais, constatou-se que 98,6% (69/70) dos machos foram negativos e que dos animais positivos, 94,4% (17/18) eram fêmeas, contrariando outras investigações (PINHEIRO JUNIOR et al., 2009).

A análise da raça como possível fator de risco não foi estatisticamente significativa (CLEMENTINO et al., 2007), mas verificou-se maior soropositividade em animais da

raça Suffolk (28,6%), seguidos pela raça Romney Marsh (25,9%) e outras, como Hampshire Down (22,6%) (MAGALHÃES NETO & GIL-TURNES, 1996). Partindo-se de uma análise de 290 ovinos das raças Morada Nova (2), Dorper (6), Somalis (16), Santa Inês (13) e SRD (253), apenas a raça Morada Nova não apresentou resultados positivos, mas isso pode ter ocorrido devido ao pequeno número de animais amostrados dessa raça (SILVA et al., 2003).

Na Espanha, animais de raças locais apresentaram prevalência significativamente menor que animais de raças importadas. Apesar da resistência genética para a doença ser importante para explicar o resultado, tem sido sugerido que a diferença de suscetibilidade pode estar relacionada com as taxas de crescimento e precocidade sexual. Outra explicação pode ser encontrada na origem desses animais. Carneiros de rebanhos livres de *Brucella* importados para países afetados e sem medidas profiláticas podem ser altamente suscetíveis à infecção (FICAPAL et al., 1998).

Maior soropositividade para *B. ovis* pode ocorrer em grupos de carneiros utilizados em inseminação artificial do que nos utilizados em monta natural (MAGALHÃES NETO & GIL-TURNES, 1996). Entretanto, quando se analisa a ocorrência de anticorpos anti-*B. ovis* com relação ao objetivo da exploração, observa-se que propriedades com finalidade de criar animais para reprodução, onde há assistência veterinária periódica para avaliação frequente dos animais e cuidados higiênico-sanitários do rebanho, a ocorrência de soropositivos é nula. Já em criações para subsistência e de cria/recria/engorda, a frequência de soropositivos é maior devido à deficiência do manejo sanitário do rebanho (CLEMENTINO et al., 2007).

Durante o período de estação de monta, ocorre rápida evolução da enfermidade e esse fato pode ser explicado pela migração bacteriana aos órgãos genitais por estímulo hormonal. Em um estudo, no início da estação de monta, 58,7% (101/172) dos machos

foram soropositivos ao ELISA indireto, entretanto sem apresentação de sinais clínicos. Na metade do período, 13,2% (33/172) desenvolveram epididimite, chegando a 28,4% (71/172) de machos com sinais clínicos ao término da estação. A taxa de soropositivos aumentou para 74,4% (128/172) ao final dos dois meses (QUISPE et al., 2002).

2.2.4 Patogênese

Após exposição, a *Brucella* sp. penetra em superfícies mucosas intactas ou pela pele lesionada (ESTEIN, 1999; GRILLÓ et al., 1999; PAOLICCHI et al., 2000). Em seguida, os microrganismos são englobados por células fagocitárias (WALKER, 2003) e chegam aos linfonodos regionais (BIBERSTEIN et al., 1964). Nestes locais, há proliferação e infecção de outras células. Esses patógenos persistem dentro de macrófagos e em menor grau, em neutrófilos. Inibição da função fagolisossomo é o principal mecanismo para a sobrevivência intracelular (QUINN et al., 2005b). A partir dos linfonodos regionais, se disseminam por via hematogênica. Há bacteremia, com reação sistêmica moderada, resultando na migração do patógeno para órgãos reprodutivos de animais sexualmente maduros, baço, rim e fígado, persistindo por período indeterminado (BIBERSTEIN et al., 1964; RADOSTITS et al., 2002).

Através de exames bacteriológicos, verificou-se que os órgãos mais frequentemente colonizados em fêmeas infectadas por *B. ovis* são linfonodos ilíacos, baço, útero e glândula mamária, sendo que os principais órgãos-alvos em ovelhas inoculadas foram útero, linfonodos ilíacos e supramamários. Devido ao tropismo pelo útero, ocorre endometrite. Em fêmeas gestantes, a *B. ovis* aparece no trato genital na segunda metade da gestação ocasionando placentite e morte fetal ou nascimento de cordeiros de baixo peso, afetados com pneumonia supurativa, lesões renais e hepáticas que impedem a sua sobrevivência (ESTEIN, 1999; GRILLÓ et al., 1999).

Em machos, os órgãos-alvos da infecção foram epidídimo, vesícula seminal e ampolas (MANTEROLA et al., 2003). As lesões iniciais são observadas na cauda do epidídimo, podendo envolver a cabeça ou o corpo dessa estrutura. Alterações testiculares são menos intensas. A infecção provoca hiperplasia e metaplasia do epitélio do epidídimo, resultando posteriormente na formação de cistos intraepiteliais. Neutrófilos ocasionalmente se acumulam nesses cistos e podem ser vistos migrando através do epitélio, havendo assim a formação de pus. As alterações epiteliais levam ao extravasamento de espermatozóides e à presença desses no interstício, provocando severa reação inflamatória aguda e crônica (BIBERSTEIN et al., 1963).

A brucelose genital em carneiros está associada com a duradoura resposta antiespermática mediada pela presença de anticorpos antiesperma e resposta imune celular contra esperma e tecido testicular autólogos. A exposição do sistema imunológico a antígenos espermáticos, resultado de trauma ou infecção do trato genital, estimula altos títulos de anticorpos que persistem por muitos anos. Além disso, observa-se em carneiros infectados, a leucocitoespermia com conseqüente alteração da qualidade seminal, já que os leucócitos produzem citocinas e radicais livres que reduzem a motilidade e o potencial de fertilização dos espermatozóides (PAOLICCHI et al., 2000).

Sendo assim, a *B. ovis* produz uma infecção em ovinos que é caracterizada principalmente por epididimite. Há inflamação intersticial crônica com desenvolvimento de granuloma espermático no epidídimo e glândulas acessórias, podendo afetar o testículo, com formação de espermatocelose e esterilidade. Conseqüentemente, há alterações no sêmen e diminuição da sua qualidade devido à presença de células inflamatórias, detritos celulares, anormalidades morfológicas e mortalidade de espermatozóides (QUINN et al., 2005b; ESTEIN, 1999). A diminuição da fertilidade característica da doença pode ocorrer justamente devido a esse incremento

de espermatozóides com defeitos, principalmente de cauda e com cabeças isoladas (MAGALHÃES NETO & GIL-TURNES, 1996).

2.2.5 Achados clínicos

A brucelose ovina causada por *B. ovis* caracteriza-se por epididimite nos machos, abortamento nas fêmeas, natimortos, nascimento de cordeiros fracos e aumento da mortalidade perinatal de cordeiros, provocando a diminuição da eficiência reprodutiva dos rebanhos, encurtamento da vida reprodutiva dos machos e descarte de elevado número de animais. Isso tem como consequência a diminuição dos rendimentos e elevadas perdas econômicas à ovinocultura (LIBAL & KIRKBRIDE, 1983; MAGALHÃES NETO & GIL-TURNES, 1996; ESTEIN, 1999).

Em machos, inicialmente observa-se a perda de qualidade do sêmen, com diminuição da motilidade e concentração, além de anormalidades dos espermatozóides. Posteriormente, lesões palpáveis podem ser observadas na bolsa escrotal. As lesões são principalmente observadas no epidídimo, túnica vaginal e testículos de carneiros. Elas variam de leve aumento de volume do epidídimo para extensas indurações (CFSPH, 2010).

Há a tendência para epididimite unilateral, em vez de bilateral (Figura 9). A cauda do epidídimo é a parte mais frequentemente atingida. As alterações em linfonodos consistem em aumento de tamanho e consistência firme. Os linfonodos pré-crurais e inguinais são os mais afetados (ROBLES et al., 1998).

Sendo assim, na fase inicial, ocorre deterioração do sêmen, que pode apresentar, além disso, glóbulos de pus e o agente causal. Posteriormente, aparecem sinais de inflamação aguda, com edema na bolsa escrotal, simultaneamente com febre, enfraquecimento e taquipneia. Na fase crônica, as lesões podem ser determinadas pela

palpação do epidídimo, formando-se espermatocele, fibrose e aderências. O testículo pode estar atrofiado, com fibrose e calcificação. Por vezes, os sintomas da fase aguda são pouco aparentes, o mesmo ocorrendo com as lesões da forma crônica (RAMOS et al., 1966).



Figura 9. Epididimite ovina por *Brucella ovis*. [A] Epididimite unilateral, com aumento de volume e consistência firme da cabeça e cauda do epidídimo esquerdo. [B] Orquite e epididimite unilateral. Testículo esquerdo aumentado de volume e com sensibilidade dolorosa. Cauda do epidídimo esquerdo com consistência firme. Fonte: arquivo pessoal.

Lesões no epidídimo unilaterais ou bilaterais foram identificadas seis semanas após a infecção experimental via conjuntival e lesões testiculares, deformação e endurecimento do epidídimo foram detectados três semanas após a infecção via prepucial (PAOLICCHI et al., 2000).

2.2.6 Achados anátomo-patológicos e histopatológicos

Dentre os achados de necropsia em carneiros infectados por *B. ovis*, destacaram-se fibrose e aderência na túnica vaginal, espermatocele e granuloma no epidídimo. Atrofia fibrosa pode ocorrer no testículo (Figura 10). Exames histopatológicos revelaram ainda infiltrados inflamatórios com neutrófilos e linfócitos (BUCKRELL et al., 1985; CFSPH, 2010).

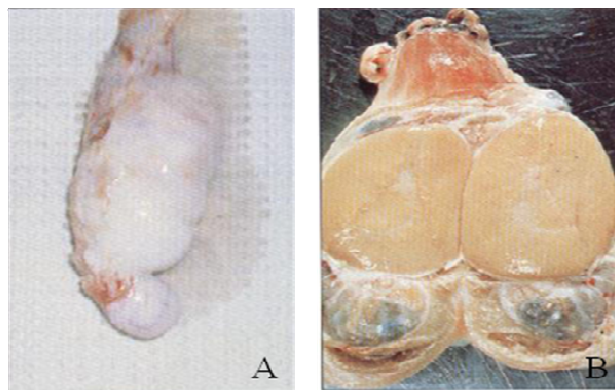


Figura 10. Achados de necropsia na brucelose ovina. [A] Atrofia severa do testículo em uma infecção crônica. [B] Fibrose espessa na cauda do epidídimo. Fonte: Linklater & Smith (1993).

Achados histopatológicos em carneiros apresentando lesões clínicas, inoculados experimentalmente, incluíram numerosos granulomas espermáticos, sendo a maior parte deles localizada na cauda do epidídimo, infiltrados de neutrófilos e macrófagos com espermatozóides fagocitados e células gigantes. Degeneração, atrofia e mineralização podem ser observadas nos testículos (PAOLICCHI et al., 2000).

A presença de severas lesões macroscópicas e histopatológicas no tecido genital de carneiros infectados indica a quebra da tolerância imunológica. A infecção não necessariamente inicia o fenômeno auto-imune, mas é sabido que infecções do trato genital frequentemente estão associadas com resposta imune celular e humoral anti-espermática (PAOLICCHI et al., 2000).

À necropsia de ovelhas inoculadas com *B. ovis*, nenhum órgão demonstrou sinal consistente de infecção. Os achados histopatológicos foram endometrite caracterizada por hiperplasia epitelial com cistos intra-epiteliais e infiltrados de linfócitos e macrófagos. Além disso, alguns animais apresentaram endometrite necrótica com focos de miometrite crônica e perimetrite (GRILLÓ et al., 1999).

Fetos abortados aos quatro meses de gestação apresentaram peritonite fibrinosa. Placentite também foi um achado consistente. As membranas placentárias estavam edemaciadas e com exsudato fibrinoso amarelado, primariamente em áreas

intercotiledonárias. Ao exame histopatológico, observou-se edema e placentite supurativa multifocal. Exsudato supurativo foi observado em brônquios, bronquíolos e alvéolos dos fetos (LIBAL & KIRKBRIDE, 1983).

2.2.7 Diagnóstico diferencial

Abortamentos podem estar relacionados a agentes infecciosos, medicamentos, deficiência nutricional e plantas tóxicas. Placentite e pneumonia fetal frequentemente são observadas em abortamentos infecciosos, que podem ser causados por uma variedade de microrganismos, como *Chlamydia* spp., *Corynebacterium pyogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Coxiella burnetti*, *Toxoplasma gondii* e vírus da língua azul (LIBAL & KIRKBRIDE, 1983; ESTEIN, 1999; MOBINI et al., 2005).

Além disso, para o diagnóstico diferencial da epididimite e orquite, outros microrganismos devem ser considerados, dentre eles *Actinobacillus* spp., *Histophilus* spp., *Haemophilus* spp. e *Corynebacterium pseudotuberculosis* (ROBLES et al., 1998; MOBINI et al., 2005; CFSPH, 2010).

2.2.8 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico da infecção por *B. ovis* pode ser realizado utilizando-se critérios clínicos, bacteriológicos ou sorológicos (FICAPAL et al., 1998; ESTEIN, 1999). Métodos clínicos e bacteriológicos não são adequados para a detecção da doença em um número muito grande de ovinos, porque ambos os métodos falham ao detectar todos os animais infectados (NOZAKI et al., 2004). O exame clínico possui valor limitado por que podem existir animais infectados sem sinais clínicos. Além disso, outros patógenos podem ser responsáveis por lesões genitais em carneiros (FICAPAL et al., 1998;

QUISPE et al., 2002). Houve baixa correlação entre carneiros com epididimite e positivos ao teste de IDGA (ROBLES et al., 1998).

Como a *B. ovis* pode provocar infecções subclínicas, para um animal ser considerado negativo, além do exame clínico, devem ser realizados exames sorológicos (FC, IDGA, ELISA) e /ou exame bacteriológico de sêmen (MAGALHÃES NETO & GIL-TURNES, 1996). É importante ressaltar que a eliminação do agente através do sêmen pode ser intermitente ou ausente em animais infectados. Sendo assim, o número de animais soropositivos pode ser maior que o de animais positivos em cultura bacteriológica (FICAPAL et al., 1998; MANTEROLA et al., 2003).

Buckrell et al. (1985) relataram animal com sinais clínicos de epididimite sem muitas alterações da qualidade do sêmen inicialmente, observando-se 80% de morfologia normal e muitas células inflamatórias (neutrófilos e linfócitos). O teste de FC foi positivo, mas não obteve-se êxito na tentativa de isolamento do agente no sêmen. A avaliação seminal quatro semanas mais tarde revelou redução da qualidade e concentração. Outro carneiro que não possuía anormalidades à palpação, foi positivo ao teste de FC. Seis semanas mais tarde, ao ser reavaliado, ele apresentou lesões no trato reprodutivo.

O sêmen pode ser examinado no microscópio óptico para determinação de existência de anormalidades na motilidade e morfologia dos espermatozoides (ESTEIN, 1999). Em animais sorologicamente positivos e sem sinais clínicos da enfermidade, verificou-se ao espermograma que 70% dos espermatozoides eram normais, 10% com cabeças isoladas, 4% com defeitos de cabeça, 10% de cauda e 6% com outros defeitos. Já nos animais soropositivos e clinicamente afetados, 50% dos espermatozoides eram normais, 25% apresentaram cabeças isoladas, 4% defeitos de cabeça, 11% de cauda e 10% outros defeitos (MAGALHÃES NETO & GIL-TURNES, 1996).

O teste bacteriológico pode ser realizado com amostras de conteúdo abomasal e pulmões de fetos abortados, placenta, secreção vaginal, secreção uterina, leite, sêmen, baço, fígado, úbere, linfonodos (principalmente inguinal, ilíaco e supramamário), epidídimo, testículos e órgãos sexuais acessórios (LIBAL & KIRKBRIDGE, 1983; FICAPAL et al., 1998; GRILLÓ et al., 1999; WALKER, 2003; QUINN et al., 2005b).

O exame direto pode ser realizado com a coloração de gram em esfregaço de conteúdo abomasal de um feto abortado e da placenta, revelando grande número de cocobacilos gram negativos. Coloração de ZNM e de Macchiavello também são utilizadas para demonstrar *Brucella*. Os organismos podem ser detectados no sêmen, mas geralmente estão em pequeno número. É difícil detectar *Brucella* por exame direto em outras amostras, especialmente de animais com infecções crônicas (WALKER, 2003).

A coloração com Giemsa permite avaliar a presença de células inflamatórias. Quando se observam microrganismos suspeitos na coloração de ZNM, a amostra pode ser inoculada em meios seletivos (Thayer Martin modificado), com incubação a uma atmosfera de 5 a 10% de CO₂, devendo ser examinada durante dez dias antes de dar a cultura como negativa. Por outro lado, este resultado não descarta a presença de *B. ovis* na enfermidade de natureza crônica, quando pode não haver a excreção do microrganismo (ESTEIN, 1999).

O isolamento é feito também pela inoculação das amostras em ágar sangue ovino a 5% e incubadas com 80% de N₂, 10% de CO₂ e 10% de H₂ por 72 horas a 37°C. São bactérias imóveis, produtoras de catalase, mas não de oxidase e urease (LIBAL & KIRKBRIDGE, 1983).

O diagnóstico da brucelose ovina se realiza geralmente através de provas sorológicas, sendo as mais utilizadas a de FC, IDGA e ELISA. Tanto a técnica de FC

quanto a de ELISA requerem equipamentos especiais, enquanto que a de IDGA pode ser utilizada em laboratórios mais simples (ROBLES, 1998). A bactéria *Dichelobacter nodosus*, agente etiológico de pododermatite, pode estar relacionada com reação cruzada em testes sorológicos de *B. ovis* (CFSPH, 2010).

A técnica de microimunodifusão (MIDT), atualmente referida simplesmente como imunodifusão em gel de ágar, foi desenvolvida a partir da necessidade de se maximizar o número de amostras testadas, uma vez que o teste de macroimunodifusão (MADT) requeria grande quantidade de antígeno. O teste de MIDT possui dois padrões geométricos, em pentágono ou hexágono (Figura 11). Este possui vantagem sobre aquele uma vez que quando arranjados em hexágono, os soros testes ficam entre os soros padrões, arrumados de forma equidistante ao poço central contendo o antígeno (WINWARD et al., 1979).

O método de IDGA é amplamente utilizado para o diagnóstico inicial de triagem num rebanho ou região. O teste é de imunodifusão dupla e fundamenta-se na difusão de anticorpo e antígeno em uma base semi-sólida contendo ágar e eletrólitos. Quando o antígeno e anticorpo se encontram, interatuam e precipitam, formando imunocomplexos que podem ser visualizados como linhas de precipitação (PINHEIRO et al., 2001b).

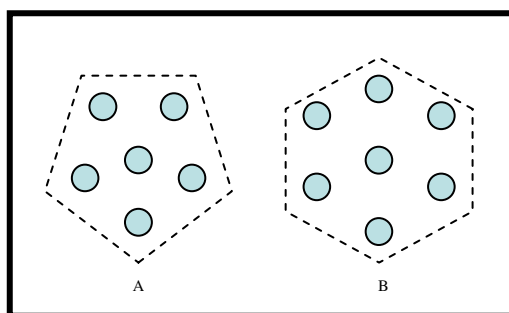


Figura 11. Padrões do teste de microimunodifusão. [A] Teste em pentágono. No poço central coloca-se o antígeno, em dois poços periféricos os soros de referência positiva e nos três poços restantes os soros testes. [B] Teste em hexágono. No poço central coloca-se o antígeno e nos poços periféricos colocam-se os soros de referência positiva intercalados por soros testes. Fonte: Winward et al. (1979).

Apesar de ambos os testes de FC e IDGA serem apropriados para o diagnóstico da *B. ovis*, alguns carneiros infectados são IDGA negativos, mas FC positivos e vice-versa (FICAPAL et al., 1998).

A sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos dependem principalmente dos antígenos utilizados (Figura 12). O antígeno (amostra de *B. ovis* Reo 198) de extrato salino obtido por aquecimento obteve os melhores resultados nos testes de FC, IDGA e ELISA. Estudos comparativos demonstraram que o ELISA é mais sensível (97,6%) que o IDGA (96,4%) e FC (92,7%). A combinação de IDGA e ELISA apresentou 100% de sensibilidade contra 96,4% obtidos com a combinação de IDGA e FC. Os três testes apresentaram especificidade de 100%. O IDGA possui a vantagem de ser de fácil execução e de poder ser realizado em laboratórios simples. Tem como desvantagem o fato de os resultados serem interpretados apenas qualitativamente (MARÍN et al., 1989).

Outro estudo também demonstrou que o maior percentual de carneiros infectados é detectado pela combinação de testes. A sensibilidade individual de FC e IDGA foi de 91,8%, enquanto que a combinação dos resultados aumentou a sensibilidade para 95,1%. Os dois testes individualmente tiveram especificidade de 100%. Para as provas sorológicas, foi utilizado extrato salino aquecido do antígeno da amostra *B. ovis* Reo 198 (FICAPAL et al., 1998).

$$\text{Sensibilidade (\%)} = \frac{\text{Número de soros de animais infectados testados positivos}}{\text{Número total de soros testados de animais infectados}}$$

$$\text{Especificidade (\%)} = \frac{\text{Número de soros de animais não-infectados testados negativos}}{\text{Número total de soros testados de animais não-infectados}}$$

Figura 12. Cálculo do percentual de sensibilidade e especificidade. Fonte: Marín et al. (1989).

Utilizando o antígeno de extrato salino aquecido obtido a partir da cepa Reo 198 de *B. ovis*, o teste de IDGA apresentou especificidade de 100% e uma variação da sensibilidade quando se avaliou carneiros naturalmente infectados (97,10%) e carneiros infectados experimentalmente (91,23%). Também foi observado 39,17% de reação cruzada com *B. melitensis*. A sensibilidade de 97,1% é comparável com a sensibilidade de FC e ELISA. A técnica de IDGA para o diagnóstico de *B. ovis* produz resultados confiáveis e pode ser utilizada por veterinários de campo para o diagnóstico da brucelose em rebanhos e para o desenvolvimento de programas de controle (ROBLES, 1998).

Ao se comparar o teste de ELISA indireto com o IDGA e FC, Marinho & Mathias (1996) observaram divergência de resultados. Enquanto que o ELISA indireto detectou nove resultados positivos, o IDGA não apresentou animais reagentes, de forma semelhante ao teste de FC. Os autores associaram este fato à maior capacidade do ELISA indireto em detectar a positividade. Entretanto, diante da ausência de manifestação clínica e histórico da enfermidade nos rebanhos estudados, associados aos resultados das três provas, concluiu-se que nenhum animal era positivo e que os resultados do teste de ELISA indireto eram falso-positivos.

Os testes de IDGA e FC apresentaram concordância de 100% na detecção de animais negativos. A técnica de FC, apesar das desvantagens de ser mais trabalhosa e de exigir a disponibilidade constante de reagentes altamente lábeis, apresenta resultados mais regulares e constantes, que não deixam margens de dúvida na interpretação e leitura do resultado final (MARINHO & MATHIAS, 1996).

Nozaki et al. (2004) observaram a frequência de 12% (124/1.033) de soropositividade quando utilizaram o teste de IDGA sem o tratamento com 2-

mercaptoetanol (2-ME) e de 1,1% (11/1.033) quando fizeram uso do referido tratamento. Isso pode ter ocorrido devido à ação do 2-ME, que degrada a molécula de IgM. A redução da sensibilidade do IDGA com 2-ME pode também ser decorrente da diluição do soro quando tratado. Além disso, os autores utilizaram o teste de ELISA e não observaram animais reagentes que pudessem ser considerados positivos, sendo 61 (6%) suspeitos. Observou-se que o ELISA detectou como suspeitos sete animais que resultaram positivos e 51 dos negativos ao teste de IDGA sem 2-ME. Isso pode ter ocorrido devido à elevada sensibilidade do teste de ELISA. Sendo assim, diante da baixa concordância entre as provas sorológicas avaliadas, os autores recomendaram a aplicação associada de IDGA sem 2-ME e ELISA, de forma a se obter melhor sensibilidade e resultados mais confiáveis.

A técnica de PCR foi capaz de amplificar o DNA de *Brucella* sp. a partir de amostras de testículo, epidídimo e útero de animais soropositivos a *B. ovis* pelo IDGA (ALVES et al., 2010). Pode-se obter testes PCR positivos em amostras negativas à cultura bacteriológica devido ao fato de a cultura falhar nos casos de contaminação excessiva da amostra, pouca quantidade de bactérias ou existência de células inviáveis de *B. ovis*. O teste de PCR para o diagnóstico da *B. ovis* em sêmen de carneiros apresentou alta especificidade (100%), comparada a da cultura bacteriológica. Entretanto, utilizando-se como referência os resultados de testes sorológicos (IDGA e/ou FC), a sensibilidade relativa foi de 50% para a cultura bacteriológica do sêmen e de 51,9% para o PCR (MANTEROLA et al., 2003).

2.2.9 Tratamento, controle e profilaxia

O tratamento nos casos de ocorrência natural raramente é empregado (RADOSTITS et al., 2002). A multiplicação e sobrevivência de *B. ovis* dentro do macrófago dificultam

a ação de antibióticos. Por esta razão, é necessário manter concentrações bactericidas por períodos prolongados e utilizar antibióticos capazes de atravessar a membrana das células fagocíticas. A combinação de aureomicina com sulfato de estreptomicina ou oxitetraciclina com diidroestreptomicina tem resultados satisfatórios. Mas deve-se atentar-se para o ponto de vista econômico, além de instituir o tratamento antes do aparecimento de lesões irreversíveis (ESTEIN, 1999).

O tratamento de carneiros infectados experimentalmente e apresentando sinais clínicos característicos com oxitetraciclina, na dose de 20mg/kg a cada 72 horas durante 30 dias provocou a diminuição dos títulos de anticorpos contra *B. ovis* e a ausência do agente no sêmen e tecidos genitais. Entretanto, a resposta imunológica antiesperma permaneceu alta durante longo período (PAOLICCHI et al., 2000).

A prevalência das infecções geralmente é muito menor nos países e nos rebanhos que estabelecem programas de controle. A principal forma de controle de infecção por *B. ovis* em um rebanho é a identificação e remoção de carneiros infectados e prevenção de novas infecções. *B. ovis* geralmente é introduzida nos rebanhos através de animais ou sêmen infectados. Sendo assim, práticas que permitam introdução de carneiros infectados em um plantel, como o empréstimo de machos reprodutores, devem ser evitadas. Para tanto, medidas sanitárias rigorosas, como exame clínico e sorológico de qualquer animal a ser adquirido são importantes para impedir a propagação da enfermidade (MARINHO & MATHIAS, 1996; SILVA et al., 2003; AZEVEDO et al., 2004; CFSPH, 2010).

Outras medidas de controle da enfermidade incluem a separação de machos com até um ano de idade dos carneiros maduros. Todos os machos devem ser palpados para identificação de lesões no epidídimo ao menos duas vezes por ano antes da estação de reprodução, sendo eliminados aqueles com lesões palpáveis. Para identificar carneiros

infectados e sem lesões, utilizam-se testes sorológicos. O teste sorológico deve ser realizado, no mínimo, duas vezes antes que os carneiros sejam colocados com ovelhas reprodutoras (WALKER, 2003). Em países onde a doença é endêmica, o programa de controle da enfermidade inclui testes sorológicos e palpação escrotal (QUINN et al., 2005b).

No Peru, muitos dos sistemas de produção de ovinos têm adotado recomendações mínimas para o controle, a maioria eliminando animais clinicamente enfermos em determinadas épocas do ano. Poucos realizam exames sorológicos. Os exames clínicos não são suficientes para o adequado controle da infecção, pois podem ocorrer animais soropositivos sem lesões clínicas. Talvez por isso a *B. ovis* esteja amplamente difundida nesse país (QUISPE et al., 2002).

Em um sistema de produção extensivo infectado por *B. ovis*, realizou-se estudo para caracterização da enfermidade durante três anos. A partir do segundo ano da pesquisa, carneiros apresentando lesões clínicas ou soropositivos foram sacrificados. Entretanto, o sacrifício individual foi incapaz de diminuir a incidência sorológica de *B. ovis*, apesar de diminuir a ocorrência de epididimite (ROBLES et al., 1998).

A vacinação é a alternativa mais adequada para o controle da infecção por *B. ovis* em áreas com moderada a alta prevalência (GALINDO et al., 2009) já que nestas áreas a erradicação por meio de provas sorológicas e eliminação dos animais é economicamente inviável. Em alguns países, a vacinação não é permitida, sendo a erradicação por meio do teste e do abate o único método de controle (RADOSTITS et al., 2002).

Bacterinas (*B. ovis* inativadas com formol) têm sido utilizadas para o controle da enfermidade, entretanto, com limitada eficácia. A sua combinação com a amostra 19 de *B. abortus* induz imunidade duradoura e de alto nível, mas com desvantagens, como

soroconversão dos animais e possibilidade de causar epididimite nos carneiros. A *B. melitensis* Rev-1, cepa atenuada lisa, tem sido considerada a melhor vacina disponível, conferindo eficaz proteção cruzada contra *B. ovis*. Entretanto, também interfere no diagnóstico sorológico e não é aconselhável a sua utilização em áreas livres de *B. melitensis*. Há relatos de abortamentos em fêmeas prenhes vacinadas com a Rev-1 (ESTEIN, 1999; RADOSTITS et al., 2002).

A identificação de antígenos de *B. ovis* para desenvolvimento de vacinas subcelulares, capazes de induzir uma resposta imune protetora sem inteferir no diagnóstico sorológico, é essencial para o aprimoramento das medidas profiláticas (ESTEIN, 1999).

3. ARTIGO CIENTÍFICO I

Anticorpos contra o vírus da língua azul em rebanhos ovinos da Microrregião de Juazeiro – Bahia¹.

Antibodies against the bluetongue virus in sheep flocks of Bahia State, Brazil.

SOUZA, Thiago Sampaio de¹; COSTA, Joselito Nunes²; MARTINEZ, Priscila Martinez³; COSTA NETO, Antonio Oliveira⁴; PINHEIRO, Raymundo Rizaldo⁵

1.Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos, Salvador, Bahia, Brasil.

2.Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Patologia e Clínicas, Salvador, Bahia, Brasil.

3.Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e Parnaíba, Juazeiro, Bahia, Brasil.

4.Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Biologia, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

5.Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, Ceará, Brasil.

*Endereço para correspondência: thiago_sampaio@hotmail.com

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi verificar a frequência de ovinos soropositivos para o vírus da língua azul na Microrregião de Juazeiro – Bahia. Para o diagnóstico sorológico, o teste de imunodifusão em gel de ágar foi utilizado para pesquisar 469 amostras de soro oriundas de 58 rebanhos. Durante as colheitas, um questionário foi aplicado a cada criador a fim de se obter dados sobre o sistema de criação e correlacioná-los com a sorologia. Os resultados demonstraram que 0,43% (2/469) das amostras analisadas apresentaram anticorpos contra o agente. Esta região é caracterizada pelo clima semiárido e pela predominância do tipo de exploração extensiva, com presença de animais nativos, mestiços e sem raça definida para produção de carne e pele, com baixa produtividade e tecnificação. Acredita-se que o baixo número de animais positivos neste inquérito esteja relacionado com as características dos sistemas de produção e do ambiente.

Palavras-chave: IDGA, *Orbivirus*, ruminantes, semiárido.

¹ SOUZA, T.S.; COSTA, J.N.; MARTINEZ, P.M.; COSTA NETO, A.O.; PINHEIRO, R.R. Anticorpos contra o vírus da Língua Azul em rebanhos ovinos da Microrregião de Juazeiro, Bahia. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.3, p.419-427, 2010.

SUMMARY

The objective of this work was to verify the frequency of sheep with positive serology for Bluetongue virus in microrregion of Juazeiro, Bahia State, Brazil. For serological diagnosis, the agar gel immunodiffusion test was used to search 469 serum samples of 58 herds. During collection, an epidemiological questionnaire was applied to each farmer. The results demonstrated that 0,43% (2/469) of the analyzed samples presented antibodies for the agent. This region is characterized for semi-arid climate and the predominant exploration system is the extensive one, with presence of native and crossbred animals aiming the production of meat and skin, with low productivity and technification. It is believed the low number of positive sheep found in this survey is related to the production systems and environment features.

Keywords: AGID, *Orbivirus*, ruminants, semi-arid.

INTRODUÇÃO

A língua azul (LA) é uma enfermidade viral, não contagiosa, cujo agente etiológico pertence ao gênero *Orbivirus* e família *Reoviridae*. Tem como hospedeiros os ruminantes domésticos e selvagens, sendo os ovinos os mais sensíveis. O vírus da língua azul (VLA) é transmitido pela picada de mosquitos do gênero *Culicoides* infectados (COSTA et al., 2006; BATTEN et al., 2008; WILSON et al., 2008), embora possa ocorrer transmissão transplacentária (CLERCQ et al., 2008; SANTMANBERENDS et al., 2010) e venérea, através do sêmen contaminado (WILSON et al., 2008). É uma doença de notificação compulsória à Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), cujo impacto econômico decorre não apenas das perdas diretas nos rebanhos afetados, mas também das restrições econômicas impostas por países importadores (OIE, 2008).

No mundo, 24 sorotipos tinham sido caracterizados. Entretanto, na Suíça, um orbivírus desconhecido foi identificado e denominado como Orbivírus Toggenburg (TOV). Após caracterização da nova estirpe viral e análises genômicas, este vírus foi designado como o 25º sorotipo do VLA (HOFMANN et al., 2008; CHAIGNAT et al., 2009).

Os sinais clínicos da LA incluem anorexia, febre e apatia; edema facial; lesões e crostas na mucosa nasal; erosões e edema nos lábios; hiperemia, erosões e ulcerações da mucosa oral; erosões e ulcerações da língua; sialorreia; ranger de dentes; conjuntivite; hipersensibilidade da pele; erosões nos tetos; coronite, laminite e pododermatite; marcha rígida e paresia (BALDWIN et al., 1991; CLAVIJO et al., 2002; ELBERS et al., 2008); além de transtornos reprodutivos como abortamentos, natimortos, malformações, nascimento de animais fracos e infertilidade (CEBRA & CEBRA, 2005).

Os principais métodos de diagnóstico laboratorial da LA recomendados pela OIE baseiam-se no isolamento e identificação do agente e em testes sorológicos, podendo-se utilizar neste último caso, as técnicas de imunoensaio enzimático competitivo (cELISA), imunodifusão em gel de ágar (IDGA), soroneutralização e fixação de complemento (FC) (OIE, 2008). A sorologia é uma ferramenta importante no diagnóstico de doenças e tem exercido um importante papel na determinação e distribuição da infecção pelo VLA (CHAGAS & PINHEIRO, 2003; KONRAD et al., 2004).

O teste de FC foi amplamente utilizado para diagnóstico e qualificação de animais para exportação. Entretanto, vem sendo substituído pelo IDGA, que é um método amplamente utilizado para a detecção de anticorpos nas diferentes espécies suscetíveis e para qualificação de animais para exportação (JOCHIM & CHOW, 1969; LOBATO, 1999). Ele apresenta uma desvantagem que é a possibilidade de ocorrer reação cruzada

com o vírus da doença hemorrágica epizootica dos cervídeos (CHANDEL et al., 2003; COSTA et al., 2006).

Desde o primeiro relato da ocorrência de animais soropositivos na América do Sul, no Brasil, em 1978, estudos têm determinado a disseminação da infecção em ovinos, bovinos, caprinos e búfalos (LAGER, 2004). Em 1980, 60 bovinos oriundos do Brasil foram admitidos na Flórida (EUA) para quarentena quando então oito animais apresentaram anticorpos para o VLA detectáveis por IDGA, isolando-se o sorotipo 4 de um dos animais (GROOCOCK & CAMPBELL, 1982).

Apesar de múltiplos sorotipos para VLA poderem estar circulando pela América do Sul, a doença clínica não tem sido relatada. Entretanto, em 1998, foram observados em uma propriedade do distrito de Xerém, município de Duque de Caxias, estado do Rio de Janeiro (RJ), diversos ovinos e caprinos com sintomas de LA. Amostras de sangue foram colhidas para diagnóstico sorológico por IDGA e ELISA no Centro Panamericano de Febre Aftosa (CPFA), obtendo-se resultados positivos (FIGUEIREDO et al., 2007).

Em abril de 2001, foi relatado em uma fazenda localizada no Paraná, ovinos com doença aguda e severa, isolando-se o sorotipo 12 do VLA (CLAVIJO et al., 2002). Neste mesmo estado, um segundo foco foi detectado em fevereiro de 2002, levando à morte de 13 caprinos e outros dois focos foram observados em março de 2002, com a morte de 18 caprinos e nove ovinos (LAGER, 2004).

Dessa forma, considerando-se que a Bahia (BA) possui o segundo maior rebanho de ovinos do país e a ausência de dados acerca da LA neste estado, objetivou-se a realização de inquérito sorológico para o VLA em rebanhos ovinos da Microrregião de Juazeiro, que detém 614.782 ovinos, o equivalente a aproximadamente 23% do rebanho

baiano e 4,3% do rebanho nacional, segundo o Censo Agropecuário de 2006 (IBGE, 2010).

MATERIAL E MÉTODOS

O estado da Bahia localiza-se na região Nordeste e sua superfície cobre 564.692,669Km² de área territorial, o que representa 36,3% dos nove estados da região nordestina e 6,64% do território brasileiro, sendo que 68,7% encontram-se no semiárido (BAHIA, 2009). A área de atuação deste estudo compreendeu a Microrregião de Juazeiro – BA (Região do Baixo Médio São Francisco), localizada no semiárido baiano, pertencente à mesorregião do Vale São - Franciscano e dividida em oito municípios: Pilão Arcado, Campo Alegre de Lourdes, Remanso, Sento Sé, Casa Nova, Sobradinho, Juazeiro e Curaçá (Figura 13).



Figura 13. Microrregião de Juazeiro – Bahia (Região do Baixo Médio São Francisco) e seus oito municípios: (1) Pilão Arcado, (2) Campo Alegre de Lourdes, (3) Remanso, (4) Sento Sé, (5) Casa Nova, (6) Sobradinho, (7) Juazeiro e (8) Curaçá. Fonte: Wikipédia (2008).

O número mínimo de amostras (n) foi calculado estatisticamente, considerando uma prevalência estimada em 24,54%, com erro amostral de 20% e grau de confiança de 95% (ASTUDILLO, 1979). A estimativa da prevalência levou em consideração a média dos resultados observados em inquéritos sorológicos conduzidos em outros estados brasileiros já que não existiam dados da LA no estado da Bahia (Tabela 4). Dessa forma, calculou-se a amostragem mínima de 295 animais. Entretanto, foram colhidas 469 amostras oriundas de 58 propriedades rurais selecionadas por método não probabilístico, já que não havia listas de propriedades que possibilitassem a amostragem aleatória. O número de amostras por município foi proporcional à participação deste no rebanho total da microrregião (Tabela 5), levando-se em consideração os dados relativos à pecuária divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2007.

Tabela 4. Detecção de anticorpos contra o vírus da língua azul no Brasil.

Estado	Espécie	Número de Amostras	Soropositivos (%)	Autores
Paraíba	Bovinos	137	4,38	Melo et al. (2000)
Ceará	Caprinos	1865	30,6	Silva (2002)
Minas Gerais	Ovinos	1.429	53,8	Gouveia et al. (2003a)
Minas Gerais	Caprinos	2.168	44,5	Gouveia et al. (2003a)
Paraíba	Ovinos	68	0	Gouveia et al. (2003b)
Minas Gerais	Bovinos	1.304	59,51	Konrad et al. (2004)
Rio Grande do Sul	Ovinos	1.331	0,16	Costa et al. (2006)
Rio Grande do Sul	Bovinos	1.272	0,60	Costa et al. (2006)
Ceará	Ovinos	271	27,31	Dias et al. (2007)

As propriedades visitadas foram cadastradas e os animais que participaram da pesquisa foram registrados com brincos numerados quando permitido pelo proprietário. Além disso, aplicou-se um questionário abordando dados do criador, da fazenda e do rebanho, objetivando-se caracterizar os sistemas de criação pesquisados.

Tabela 5. Número de amostras mínimas a serem testadas para língua azul por município da Microrregião de Juazeiro - Bahia.

Municípios	Rebanho (IBGE, 2007)	Participação no rebanho total (%)	Nº mínimo de amostras
Juazeiro	162.781	22,56	66
Sobradinho	6.302	0,87	03
Curaçá	72.822	10,10	30
Casa Nova	127.144	17,62	52
Campo Alegre de Lourdes	65.646	9,10	27
Pilão Arcado	61.501	8,53	25
Remanso	172.883	23,96	71
Sento Sé	52.366	7,26	21
Total	721.445	100	295

Os animais foram avaliados clinicamente, buscando-se alterações características da LA (CLAVIJO et al., 2002; ELBERS et al., 2008). A idade dos animais foi estimada com base na arcada dentária, sendo utilizados na pesquisa aqueles com mais de seis meses de idade. Após a anti-sepsia com álcool iodado, colheram-se as amostras de sangue através da punção da veia jugular, utilizando-se tubos a vácuo, sem anticoagulante. Em seguida, após a formação de coágulo, os tubos foram centrifugados a 1.500g por 10 minutos para a obtenção dos soros, que foram acondicionados em tubos tipo *ependorf*, identificados e estocados a -20°C até a realização dos testes sorológicos.

A sorologia para a detecção de anticorpos contra o VLA foi realizada pelo método de IDGA, constituído por suspensão de agarose a 0,9% em solução de 0,85% de NaCl, utilizando-se 20µL de soro padrão, soro teste e antígeno, com leitura após 24 e 48 horas de incubação, conforme recomendado pelo kit comercial utilizado da *Veterinary Medical Research and Development* (VMRD).

A partir das informações colhidas nos questionários, calcularam-se intervalos de confiança para proporção da população, considerando que este é um estudo observacional (ARANGO, 2005; MARTINS, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram testadas 469 amostras de soro de ovinos pertencentes a 58 propriedades situadas em oito municípios da Microrregião de Juazeiro - BA, utilizando-se a técnica de IDGA, sendo que 0,43% (2/469) dos animais apresentaram anticorpos contra o VLA e 3,45% (2/58) das propriedades possuíram animal soropositivo (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6. Número de soros de ovinos testados por imunodifusão em gel de ágar para língua azul na Microrregião de Juazeiro – Bahia.

Município	Nº de amostras colhidas	Nº de positivos	Prevalência (%)
Juazeiro	103	01	0,97
Sobradinho	05	0	0
Curaçá	48	0	0
Casa Nova	80	0	0
Campo Alegre de Lourdes	45	0	0
Pilão Arcado	40	0	0
Remanso	112	01	0,89
Sento Sé	36	0	0
Total	469	02	0,43

Tabela 7. Número de propriedades visitadas para levantamento sorológico de língua azul em rebanhos ovinos na Microrregião de Juazeiro – Bahia.

Município	Nº de propriedades pesquisadas	Nº de propriedades positivas	Prevalência (%)
Juazeiro	13	1	7,69
Sobradinho	01	0	0
Curaçá	06	0	0
Casa Nova	10	0	0
Campo Alegre de Lourdes	05	0	0
Pilão Arcado	05	0	0
Remanso	14	1	7,14
Sento Sé	04	0	0
Total	58	2	3,45

Em Minas Gerais, 44,5% (964/2.168) dos caprinos e 53,8% (769/1.429) dos ovinos estudados foram positivos. Das 436 propriedades que participaram do inquérito sorológico, 95% apresentaram animais positivos (GOUVEIA et al., 2003a). Konrad et

al. (2004) observaram 59,51% (776/1.304) de frequência sorológica para LA em bovinos de Minas Gerais. Em todas as propriedades trabalhadas, foram observados animais com anticorpos para o agente. No Ceará, Silva (2002) observou 30,6% (570/1.865) de caprinos sororreagentes em 99 propriedades de 119 (83,2%) amostradas e Dias et al. (2007) detectaram 27,31% (74/271) de ovinos soropositivos em 11 propriedades de 16 pesquisadas (68,8%).

Entretanto, no sertão da Paraíba, Melo et al. (2000) observaram a ocorrência de 4,38% (6/137) de bovinos apresentando anticorpos contra o VLA em duas propriedades de doze pesquisadas (16,66%). Ainda na Paraíba, Gouveia et al. (2003b) não detectaram ovinos soropositivos (0/68) em cinco propriedades pesquisadas. Já Alves et al. (2009) observaram, na mesorregião do Sertão da Paraíba, a frequência de 8,4% (27/321) de ovinos positivos e não observaram animais positivos (0/185) na mesorregião Borborema, resultando em uma ocorrência de 4,1% (27/506). No Rio Grande do Sul, apenas uma propriedade de 135 (0,74%) visitadas apresentou ovinos positivos, resultando em 0,16% de frequência sorológica em relação a 1.331 ovinos estudados. Das 128 propriedades amostradas para bovinos, duas foram positivas (1,6%), representando 0,60% de amostras positivas considerando 1.272 soros testados (COSTA et al., 2006).

No Brasil, os inquéritos sorológicos realizados em diferentes regiões têm demonstrado uma grande diversidade de resultados, com alguns estudos apontando para uma baixa frequência de soropositividade, de forma semelhante ao observado neste trabalho e outros alertando para a ampla disseminação do VLA em determinadas áreas, apesar da escassez de relatos de casos clínicos (Figura 14). Desde a primeira detecção de animais positivos ao VLA na América do Sul, no Brasil, em 1978, estudos

sorológicos têm determinado a disseminação da infecção, geralmente sem sinais clínicos (LAGER, 2004).

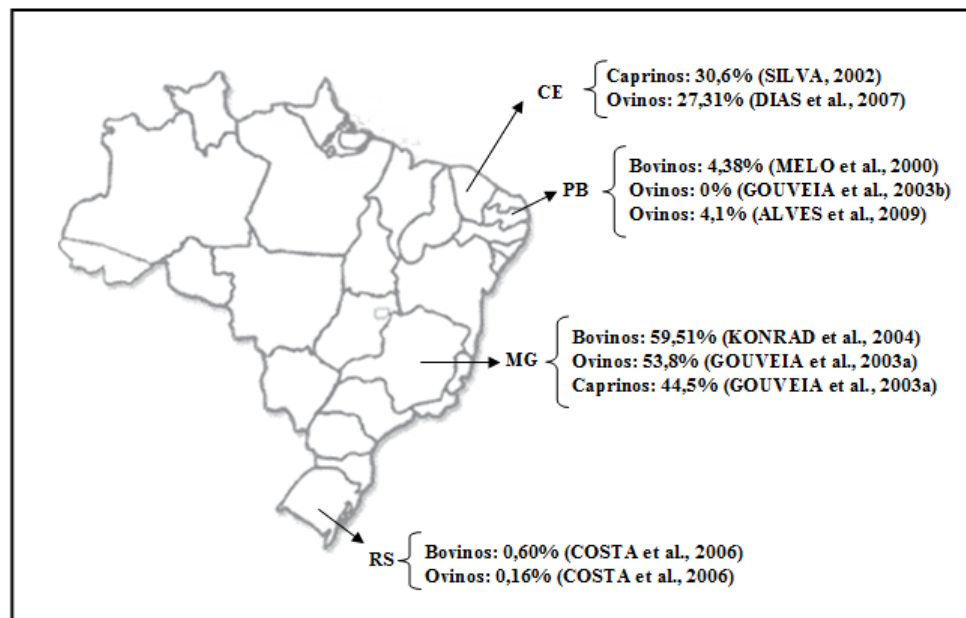


Figura 14. Resultados de inquéritos sorológicos para o vírus da língua azul realizados em diferentes regiões do Brasil.

As causas para esse fato podem ser a baixa virulência das cepas presentes ou a maior resistência de algumas raças contra a infecção pelo vírus. Além disso, as condições de temperatura e umidade na grande parte do país favorecem a multiplicação e manutenção dos vetores da doença, devendo assim mantê-la endemicamente, com uma grande parte da população de ruminantes imunes da infecção pelos sorotipos presentes na área (LOBATO, 1999; TOMICH et al., 2006).

Segundo Maclachlan (2004), algumas raças de ovinos são mais suscetíveis à LA. Ovinos nativos de regiões tropicais e subtropicais onde o VLA é endêmico são frequentemente resistentes, enquanto que raças europeias de lã fina, como a raça Merino, são altamente suscetíveis. Isso pode justificar a alta frequência de anticorpos em algumas regiões com ausência de relato de casos clínicos.

Nenhum dos animais soropositivos neste trabalho apresentou sinais clínicos característicos da língua azul, de forma semelhante ao observado em outros inquéritos sorológicos realizados no Brasil (MELO et al., 2000; GOUVEIA et al., 2003b; COSTA et al., 2006; DIAS et al., 2007; ALVES et al., 2008). Em Minas Gerais, mesmo a sorologia demonstrando elevada frequência de anticorpos contra o VLA nos rebanhos de bovinos leiteiros, observou-se que a soropositividade não estava associada aos problemas reprodutivos dos animais (KONRAD et al., 2004).

O isolamento de VLA, sorotipo 12, em foco da doença no Brasil, evidenciou que o agente está presente na América do Sul devido a fatores climáticos e presença de espécies de *Culicoides* competentes. Está claro que fatores climáticos contribuem para a distribuição do vírus. A ocorrência incomum da doença clínica, a introdução de cepas virais e a distribuição dos sorotipos de VLA podem ser atribuídas às modificações climáticas, especialmente relacionadas à temperatura, precipitação e padrões de vento, afetando a distribuição de vetores e hospedeiros (CLAVIJO et al., 2002).

Um dos fatores que pode ter contribuído para a baixa soropositividade dos animais amostrados na Microrregião de Juazeiro é a tipologia climática árida e semiárida (BAHIA, 2009). Melo et al. (2000) justificaram que a temperatura e a umidade do semiárido dificultam a proliferação do *Culicoides* sp., o que possivelmente foi determinante para a baixa prevalência de anticorpos observada no sertão da Paraíba. Entretanto, Dias et al. (2007) observaram prevalência sorológica de 27,31% em ovinos de regiões semiáridas do Ceará.

Melo et al. (2000) ressaltam que, em regiões onde a temperatura e a umidade não são favoráveis à multiplicação dos vetores, a importação e o trânsito de animais infectados podem desempenhar importante papel epidemiológico na ocorrência do VLA.

Outros fatores que podem influenciar na cinética da distribuição da LA nos rebanhos são o tipo de exploração, o manejo e as instalações (CLAVIJO et al., 2002; KONRAD et al., 2004; COSTA et al., 2006). Neste estudo, observou-se que 89,6% (81,74% - 97,46%) das propriedades visitadas adotavam sistema extensivo de criação, 10,4% (2,54% - 18,26%) o sistema semi-intensivo e não foi observada nenhuma propriedade com o sistema intensivo. Todas as propriedades visitadas tinham aprisco, sendo que este, em 98,3% (94,97% - 100%) delas, era de chão batido (Tabela 8).

Tabela 8. Características gerais das 58 propriedades visitadas na Microrregião de Juazeiro – Bahia para levantamento sorológico de língua azul.

Critério	Propriedades		
	Nº	%	IC* (%)
Sistema de criação	Intensivo	0	0
	Extensivo	52	89,6
	Semi-intensivo	6	10,4
Presença de aprisco	Sim (chão batido)	57	98,3
	Sim (ripado)	1	1,7
	Não	0	0
Reprodução	Monta natural	52	89,7
	Monta controlada	4	6,9
	Inseminação artificial	2	3,4
	Transferência de embrião	3	5,2
Tipo de exploração	Corte	10	17,2
	Corte e pele	44	75,9
	Genética	4	6,9
Origem do rebanho	Local	40	69
	Local e outros municípios	14	24,1
	Local, outros estados e países	4	6,9
Presença de raças importadas	Sim	11	19
	Não	47	81
Espécies presentes	Somentes ovinos	11	19
	Ovinos e caprinos	15	25,9
	Ovinos, caprinos e bovinos	22	37,9
	Ovinos e bovinos	10	17,2
Vacinação	Realiza	23	39,6
	Não realiza	35	60,4
Vermifugação	Realiza	55	94,8
	Não realiza	3	5,2
Cura do umbigo	Sim/iodo	7	12,1
	Sim/repelente	16	27,6
	Sim/outro produto	10	17,2
	Sim/produto não informado	6	10,4
	Não	19	32,7

*IC=Intervalo com 95% de confiança para a proporção.

Em estudo conduzido com bovinos leiteiros de Minas Gerais, todas as propriedades trabalhadas possuíram animais com anticorpos contra o agente e foi justamente no rebanho alojado em sistema *free stall*, onde a concentração de animais e a presença de água distribuída no piso das instalações são maiores, que ocorreu a maior percentagem de animais com sorologia positiva (KONRAD et al., 2004). Costa et al. (2006) observaram baixa prevalência de anticorpos contra o VLA em ovinos e bovinos no Rio Grande do Sul e verificaram que o tipo de criação predominante no estudo foi o extensivo. A propriedade com bovinos e ovinos soropositivos tinha como principal atividade a produção leiteira, com sistema de produção semi-intensivo, com bovinos e ovinos sob o mesmo manejo. Entretanto, Silva (2002) verificou maior prevalência de caprinos reagentes em propriedades com sistemas extensivos, justificando este fato à possibilidade de os animais a campo terem maior contato com os vetores devido à maior movimentação.

Alves et al. (2009) também reforçaram a hipótese de que as criações de maneira intensiva ou estabulada apresentam uma maior suscetibilidade ao vetor do vírus, evidenciando a presença de animais soropositivos em sistema intensivo de propriedades com atividade agrícola predominantemente mecanizada e irrigada. Na Microrregião de Juazeiro, a agricultura irrigada é uma atividade que se destaca e pode criar um microclima favorável à multiplicação do vetor, mas a ovinocaprinocultura geralmente se desenvolve nas áreas marginais a essa atividade.

Existe, nos municípios estudados, um sistema de criação conhecido como “Fundo de Pasto”, onde as propriedades não são registradas, não existe divisão de pastagens, são áreas comuns onde os animais de vários proprietários são criados de forma coletiva. Tecnologias para o melhoramento animal, como transferência de embrião e inseminação

artificial, não eram muito empregadas, sendo a monta natural o critério reprodutivo utilizado em 89,7% (81,88% - 97,52%) das propriedades e apenas 6,9% (0,38% - 13,42%) destas utilizavam a monta controlada (Tabela 8).

A maior parte das propriedades pesquisadas (Tabela 8) possuía o tipo de exploração para corte e pele, 75,9% (64,9% - 86,9%) e a origem do rebanho era local, 69% (57,1% - 80,9%), semelhante aos achados de Silva (2002), relatando que 76,5% das propriedades amostradas no Ceará eram voltadas à produção de carne e pele e que um percentual de 68,1% das propriedades tinham rebanhos de origem local. O autor ainda observou a ausência de diferença significativa entre a origem do rebanho e a ocorrência de soros reagentes e não reagentes ao VLA, ressaltando que um aumento na prevalência pode ocorrer em regiões cujo fluxo de transporte de animais possa ser intenso.

Além disso, na Microrregião de Juazeiro, 81% (70,9% - 91,1%) das propriedades amostradas não tinham animais de raças importadas (Tabela 8). Apenas 6,4% (4,18% - 8,62%) dos animais amostrados possuíam origem racial exótica (mestiços ou puros), sendo que dentre as raças importadas de outros países, a mais observada na região de estudo foi a Dorper. Os outros 93,6% (91,38% - 95,82%) dos animais eram sem raça definida (SRD) ou de raças nativas, como Santa Inês e Rabo Largo. Dos animais soropositivos, um era da raça Dorper e o outro da raça Santa Inês. Silva (2002) observou que o grupo com maior prevalência de LA foi o dos mestiços de exóticos, com 40,5% de caprinos reagentes.

Com isso, levando-se em consideração as características dos sistemas de criação visitados, observa-se que a possibilidade da introdução do VLA através da entrada de animais infectados foi mínima, o que também pode justificar a baixa prevalência verificada neste estudo. Melo et al. (2000) ressaltam que a importação e o intenso

trânsito de animais podem ter, provavelmente, contribuído para a presença do VLA em regiões nordestinas.

A ovinocaprinocultura tem representado uma saída para a atividade familiar no semiárido e em especial, tem experimentado um desenvolvimento sem precedentes, favorecido principalmente pelo surgimento de restaurantes especializados. Nos últimos anos, tem havido uma movimentação no sentido de se implementar a produção voltada para o mercado, não apenas o nacional, mas também o internacional. Para tanto, deve-se adotar normas sanitárias determinadas pelos organismos competentes (SOUZA, 2004).

Nesse sentido, observou-se na Microrregião de Juazeiro a tendência de se utilizar métodos de melhoramento animal para aumentar a produtividade dos rebanhos nativos e sem raça definida, inclusive com a introdução de animais de raças importadas de outros países, como a Dorper. Entretanto, deve-se ter cautela para tal procedimento.

Martinez et al. (2010) verificaram a ocorrência de anticorpos contra o vírus da maedi-visna em 0,34% (4/919) dos animais testados na Microrregião de Juazeiro, justificando que provavelmente a baixa prevalência se deveu à predominância de animais nativos, mestiços e SRD dentre outros fatores, alertando para a importância da fiscalização na introdução de animais de outros estados e regiões sem exames que demonstrem a ausência da infecção por agentes exóticos.

Quanto às espécies de animais presentes, 37,9% (25,41% - 50,39%) das propriedades possuíam ovinos, caprinos e bovinos; 25,9% (14,63% - 37,17%) ovinos e caprinos; 19% (8,9% - 29,1%) somente ovinos e 17,2% (7,49% - 26,91%) ovinos e bovinos (Tabela 8). Os bovinos têm sido considerados como reservatórios para o vírus e uma das explicações para justificar o elevado número de animais soropositivos em Minas Gerais é o fato de os bovinos infectados poderem apresentar viremia prolongada,

umentando a probabilidade de infecção de mais mosquitos transmissores (KONRAD et al., 2004).

Alves et al. (2009) relataram que em todas as propriedades que apresentaram animais reagentes na mesorregião do Sertão da Paraíba, além de ovinos, alguns produtores criavam ainda caprinos e bovinos e outros somente caprinos. No Ceará, Silva (2002) detectou maior soropositividade em propriedades onde os caprinos tinham contato direto com ovinos, sendo que este tipo de consorciação predominou entre as propriedades amostradas. Na Microrregião de Juazeiro, apesar de a maioria das propriedades consorciarem ovinos, caprinos e bovinos, a prevalência observada foi baixa, provavelmente devido à baixa circulação viral na região.

Do total de animais amostrados, 44,7% (40,2% - 49,2%) estavam com mais de três anos, seguidos por 35,3% (30,97% - 39,63) que estavam na faixa etária entre um e três anos e 20% (16,38% - 23,62%) com menos de um ano, sendo que 75,3% (71,4% - 79,2%) eram fêmeas e 24,7% (20,8% - 28,6%) eram machos. Dos animais soropositivos, um era fêmea com menos de um ano de idade e o outro também era fêmea, com mais de três anos de idade (Tabela 9).

Tabela 9. Faixa etária e sexo dos ovinos testados para língua azul na Microrregião de Juazeiro – Bahia.

Variável	Estrato	% de participação*	Soropositivos
Faixa etária	Menos de 1 ano	20±3,62	1
	De 1 a 3 anos	35,3±4,33	0
	Mais de 3 anos	44,7±4,50	1
Sexo	Fêmea	75,3±3,90	2
	Macho	24,7±3,90	0

*Intervalo com 95% de confiança para a proporção.

O baixo número de animais soropositivos observados impede a correlação da soropositividade com a faixa etária, porém Silva (2002) observou diferença significativa

do número de caprinos soropositivos de acordo com a faixa etária, com aumento progressivo do número de animais reagentes variando de 10,0% (57/570) na faixa etária de menos de 12 meses, a 28,8% (164/570) no grupo de animais entre 30 a 36 meses de vida. Segundo o autor, os animais mais velhos têm maior probabilidade de entrarem em contato com o VLA. Shringi & Shringi (2005) também verificaram maior soropositividade em animais adultos.

Silva (2002) ainda ressaltou que o baixo percentual de caprinos amostrados com mais de 36 meses de vida (4,1% ou 77/1865) foi decorrente de os rebanhos serem voltados, em sua maioria, à produção de carne e pele, criados em regime extensivo, sendo os caprinos abatidos antes desta idade. Entretanto, na Microrregião de Juazeiro, apesar da semelhança com o tipo de criação anteriormente descrito, houve predominância na amostragem de animais com idade superior a 36 meses. Isso ocorreu devido ao fato de os criadores, em sua maioria, não adotarem o modelo de descarte de fêmeas de acordo com a idade. Com isso, há o abate dos machos antes de alcançarem os 36 meses, entretanto, as fêmeas permanecem no rebanho por tempo indefinido.

Melhores condições sanitárias podem estar relacionadas aos menores índices de prevalência do VLA (SILVA, 2002; ALVES et al., 2009). Entretanto, na região de estudo, apesar de condições sanitárias precárias, a soropositividade foi baixa. A técnica de vacinação foi observada em 39,6% (27,01% - 52,19%) dos rebanhos e a vermifugação, em 94,8% (89,09% - 100%). Apenas 12,1% (3,71% - 20,49%) dos produtores relataram que curavam o umbigo dos animais recém-nascidos com iodo, sendo que o restante não aplicava essa técnica ou a realizava com outros produtos não recomendados, como repelentes (Tabela 8).

No que diz respeito ao teste sorológico utilizado, segundo Shringi & Shringi (2005), há uma diferença apreciável entre a soroprevalência detectada pelos testes de IDGA e

cELISA, sendo este último mais sensível e específico. Entretanto, o IDGA possui maior praticidade e é o principal exame utilizado em levantamentos epidemiológicos (CHAGAS & PINHEIRO, 2003; CHANDEL et al., 2003).

Os resultados indicam baixa prevalência de anticorpos contra o VLA em ovinos de região semiárida no estado da Bahia, mas demonstram que a circulação viral pode ocorrer, mesmo que em baixa escala, justificando a realização de estudos mais amplos com o propósito de esclarecer a importância e a possibilidade de ocorrência da doença nesses rebanhos bem como a presença de mosquitos vetores na região.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo financiamento do projeto, ao Centro de Desenvolvimento da Pecuária (EMV/UFBA), à Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e Parnaíba e ao Laboratório de Virologia da Embrapa Caprinos e Ovinos pelo apoio no desenvolvimento da pesquisa e aos criadores de ovinos da Microrregião de Juazeiro – BA que participaram deste levantamento.

REFERÊNCIAS

ALVES, F.A.L.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S.; SILVA, W.W.; SILVA, M.L.C.R.; LOBATO, Z.I.P.; CLEMENTINO, I.J. Soroprevalência e fatores de risco para a língua azul em carneiros das mesorregiões do Sertão e da Borborema, semi-árido do Estado da Paraíba, Brasil. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p. 484-489, 2009.

ARANGO, H.G. **Bioestatística: Teórica e Computacional**. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2005. v.1. 423p.

ASTUDILLO, V. M. **Encuestas por muestro para estudios epidemiológicos en poblaciones animales**. Rio de Janeiro: Organización Panamericana de la Salud – Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, 1979. 60p.

BAHIA. Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia. **Região Econômica Baixo Médio São Francisco – estado da Bahia**. Disponível em: <http://www.sei.ba.gov.br/site/geoambientais/cartogramas/regioes_eco/pdf/regecon_baix_medio_sf.pdf> Acesso em 04 ago. 2009.

BALDWIN, C.A.; MOSIER, D.A.; ROGERS, S.J.; BRAGG, C.R. An outbreak of disease in cattle due to bluetongue virus. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.03, p.252-255, 1991.

BATTEN, C.A.; BACHANEK-BANKOWSKA, K.; BIN-TARIF, A.; KGOSANA, L.; SWAIN, A.J.; CORTEYN, M.; DARPEL, K.; MELLOR, P.S.; ELLIOTT, H.G.; OURA, C.A.L. Bluetongue vírus: European Community inter-laboratory comparison tests to evaluate ELISA and RT-PCR detection methods. **Veterinary Microbiology**, v.129, p.80-88, 2008. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.11.005

CEBRA, C.; CEBRA, M. Enfermidades dos sistemas hematológico, imunológico e linfático (doenças multissistêmicas). In: PUGH, D.G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005, p.430-431.

CHAGAS, A.C.S.; PINHEIRO, R.R. **Língua Azul: conhecer para prevenir**. Documentos 49. Sobral: EMBRAPA Caprinos, 2003. 34p.

CHAIGNAT, V.; WORWA, G.; SCHERRER, N.; HILBE, M.; EHRENSPERGER, F.; BATTEN, C.; CORTYEN, M.; HOFMANN, M.; THUER, B. Toggenburg Orbivirus, a new bluetongue virus: Initial detection, first observations in field and experimental infection of goats and sheep. **Veterinary Microbiology**, v.138, p.11-19, 2009.

CHANDEL, B.S.; CHAUHAN, H.C.; KHER, H.N. Comparison of the standard AGID test and competitive ELISA for detecting bluetongue virus antibodies in camels in Gujarat, India. **Tropical Animal Health and Production**, v.35, p.99-104, 2003.

CLAVIJO, A.; SEPULVEDA, L.; RIVA, J.; PESSOA-SILVA, M.; TAILOR-RUTHES, A.; LOPEZ, J.W. Isolation of bluetongue virus serotype 12 from an outbreak of the disease in South America. **The Veterinary Record**, n. 151, p.301-302, 2002.

CLERCQ, K.; LEEUW, I.; VERHEYDEN, B.; VANDEMEULEBROUCKE, E.; VANBINST, T.; HERR, C.; MÉROC, E.; BERTELS, G.; STEURBAUT, N.; MIRY, C.; BLEECKER, K.; MAQUET, G.; BUGHIN, J.; SAULMONT, M.; LEBRUN, M.; SUSTRONCK, B.; DEKEN, R.; HOOYBERGHS, J.; HOUDART, P.; RAEMAEEKERS, M.; MINTIENS, K.; KERKHOF, P.; GORIS, N.; VANDENBUSSCHE, F. Transplacental Infection and Apparently Immunotolerance Induced by a Wild-type Bluetongue Virus Serotype 8 Natural Infection. **Transboundary and Emerging Diseases**, v.55, p.352-359, 2008.

COSTA, J.R.R.; LOBATO, Z.I.P.; HERRMANN, G.P.; LEITE, R.C.; HADDAD, J.P.A. Prevalência de anticorpos contra o vírus da língua azul em bovinos e ovinos do sudoeste e sudeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.02, p. 273-275, 2006.

DIAS, R.P.; OLIVEIRA, A.A.F.; PINHEIRO, A.A.; BRITO, R.L.L.; FARIAS, D.A.; ARAGÃO, M.A.C.; PINHEIRO, R.R. Soroprevalência da Língua Azul em rebanhos ovinos de sete municípios do estado do Ceará, Brasil. **Archives of Veterinary Science**, v.12, p. 272-273, 2007.

ELBERS, A.R.W.; BACKX, A.; EKKER, H.M.; VAN DER SPEK, A.N.; VAN RIJN, P.A. Performance of clinical signs to detect bluetongue virus serotype 8 outbreaks in cattle and sheep during the 2006-epidemic in the Netherlands. **Veterinary Microbiology**, v.129, p.156-162, 2008.

FIGUEIREDO, F.A.M.; OLIVEIRA, A.N.; LAGE, G.R.H.; CRUZ, L.C.G.; SACCHETTI, H.P.; PASSOS, A.H. Língua Azul – Presença de sintomas clínicos nos animais reagentes positivos em foco no município de Duque de Caxias, estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.29, n.1, p.20-23, 2007.

GOUVEIA, A.M.G.; LIMA, F.A.; LOBATO, Z.I.P.; ABREU, C.P.; LAENDER, J.O.; TOLEDO, E.; CYPRESTE, B.M. Língua Azul em ovinos e caprinos em Minas Gerais. In: XI CONGRESSO LATINOAMERICANO, V CONGRESSO BRASILEIRO, III CONGRESSO NORDESTINO DE BUIATRIA, 2003, Salvador. **Anais...** Salvador: 2003a, p. 51. (Resumo).

GOUVEIA, A.M.G.; LIMA, F.A.; SOUSA, G.J.G.; LOBATO, Z.I.P.; SILVA, A.H.; SILVA, M.A.V.; CYPRESTE, B.M. Frequência sorológica da Maedi-Visna e Língua Azul em ovinos, em propriedades e matadouro na Paraíba. In: XI CONGRESSO LATINOAMERICANO, V CONGRESSO BRASILEIRO, III CONGRESSO NORDESTINO DE BUIATRIA, 2003, Salvador. **Anais...** Salvador: 2003b, p. 52. (Resumo).

GROOCOCK, C.M.; CAMPBELL, C.H. Isolation of an Exotic Serotype of Bluetongue Virus from Imported Cattle in Quarantine. **Can. J. Comp. Med.**, v.46, p. 160-164, 1982.

HOFMANN, M.A.; RENZULLO, S.; MADER, M.; CHAIGNAT, V.; WORWA, G.; THUER, B. Genetic characterization of Toggenburg Orbivirus, a new Bluetongue Virus, from goats, Switzerland. **Emerging Infectious Diseases**, v.14, n.12, p.1855-1861, 2008.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pecuária 2004 - Rebanho ovino**. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 24 fev. 2007.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2006 - Rebanho ovino**. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em 22 abr. 2010.

JOCHIM, M.M.; CHOW, T.L. Immunodiffusion of bluetongue virus. **American Journal of Veterinary Research**, v.30, p.33-41, 1969.

KONRAD, P.A.; RODRIGUES, R.O.; CHAGAS, A.C.P.; PAZ, G.F.; LEITE, R.C. Anticorpos contra o vírus da Língua Azul em bovinos leiteiros de Minas Gerais e associações com problemas reprodutivos. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v.10, p.42-51, 2004.

LAGER, I.A. Bluetongue virus in South America: overview of viruses, vectors, surveillance and unique features. **Veterinaria Italiana**, v.40, n.3, p. 89-93, 2004.

- LOBATO, Z.I.P. Língua Azul: a doença nos bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.4, p.515-523, 1999.
- MACLACHLAN, N.J. Bluetongue: pathogenesis and duration of viraemia. **Veterinaria Italiana**, v.40, p. 462-467, 2004.
- MARTINEZ, P.M.; COSTA, J.N.; SOUZA, T.S.; COSTA NETO, A.O.; PINHEIRO, R.R. Sistemas de criação de ovinos e ocorrência de anticorpos contra o vírus da Maedi-Visna na Microrregião de Juazeiro – Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, n.2, p.342-353, 2010.
- MARTINS, G.A. **Estatística Geral e Aplicada**. 3. ed. São Paulo: Atlas, 2006. 428p.
- MELO, C.B.; OLIVEIRA, A.M.; AZEVEDO, E.O.; LOBATO, Z.I.P.; LEITE, R.C.; Anticorpos contra o vírus da Língua Azul em bovinos do sertão da Paraíba. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 1, p.19-20, 2000.
- OIE. World Organisation for Animal Health. Bluetongue. **Língua Azul**. 2002. Disponível em <http://www.oie.int/eng/maladies/fiches/a_A090.htm> Acesso em 07 jul. 2008.
- SANTMAN-BERENDS, I.M.G.A.; VAN WUIJCKHUISE, L.; VELLEMA, P.; VAN RIJN, P.A. Vertical transmission of bluetongue virus serotype 8 virus in Dutch dairy herds in 2007. **Veterinary Microbiology**, v. 141, p. 31-35, 2010. doi:10.1016/j.vetmic.2009.08.010
- SHRINGI, S.; SHRINGI, B.N. Comparative efficacy of standard AGID, CCIE and competitive ELISA for detecting bluetongue virus antibodies in indigenous breeds of sheep and goats in Rajasthan, India. **Journal of Veterinary Science**, v.6, n.1, p.77-79, 2005.
- SILVA, M.X. **Soroprevalência da Língua Azul em caprinos e sua associação com indicadores de tecnologia em propriedades do Ceará**. 2002. 83f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.
- SOUZA, R.L. Agricultura familiar e pluriatividade no semi-árido baiano. **Bahia Análises & Dados**, v.13, n.4, p. 921-930, 2004.
- TOMICH, R.G.P.; PELLEGRIN, A.O.; CAMPOS, F.S.; LOBATO, Z.I.P; BARBOSA-STANCIOLI, E.F. **Epidemiologia do vírus da língua azul em rebanhos bovinos**. Documentos 85. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2006, 26p.
- WIKIPÉDIA. **Geografia da Bahia**. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Geografia_da_Bahia> Acesso em: 23 abr. 2008.
- WILSON, A.; DARPEL, K.; MELLOR, P.S. Where does bluetongue virus sleep in the winter? **PLOS Biology**, v.06, n.08, p.1612-1617, 2008.

4. ARTIGO CIENTÍFICO II

Inquérito soro-epidemiológico de *Brucella ovis* em rebanhos ovinos no semiárido baiano²

Sero-epidemiological survey for Brucella ovis infection in sheep flocks of the semi-arid region of Bahia State, northeastern Brazil

SOUZA, Thiago Sampaio de¹; COSTA, Joselito Nunes²; MARTINEZ, Priscila Martinez³; LIMA, Carla Caroline Valença de¹; ARAÚJO, Byanca Ribeiro¹; COSTA NETO, Antonio Oliveira⁴; ANUNCIACÃO, Antonio Vicente Magnavita⁵; ALMEIDA, Maria das Graças Ávila Ribeiro⁵; PINHEIRO, Raymundo Rizaldo⁶

1.Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos, Salvador, Bahia, Brasil.

2.Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Patologia e Clínicas, Salvador, Bahia, Brasil.

3.Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e Parnaíba, Juazeiro, Bahia, Brasil.

4.Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Biologia, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

5.Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Salvador, Bahia, Brasil.

6.Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, Ceará, Brasil.

*Endereço para correspondência: thiago_sampaio@hotmail.com

RESUMO

Com o objetivo de analisar a ocorrência de anticorpos contra *Brucella ovis* em ovinos de propriedades localizadas na Microrregião de Juazeiro, Bahia, um inquérito foi conduzido em rebanhos de oito municípios que compõem esta microrregião (Juazeiro, Casa Nova, Remanso, Campo Alegre de Lourdes, Pilão Arcado, Sento Sé, Sobradinho e Curaçá). Algumas características de manejo foram pesquisadas através da aplicação de questionários epidemiológicos. O teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) foi utilizado para examinar 694 amostras de soro de 58 rebanhos. Anticorpos para *B. ovis* foram observados em cinco (0,72%) dos animais investigados, não havendo diferença estatística significativa para a idade e sexo dos animais com a proporção dos reativos.

² Submetido ao periódico "Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo".

Cinco propriedades (8,62%) apresentaram animais reagentes. Acredita-se que o baixo número de animais soropositivos observado neste estudo esteja relacionado com as características dos sistemas de produção. A Microrregião de Juazeiro se caracteriza pelo clima semiárido e pela predominância do tipo de exploração extensiva, com a presença de animais nativos, mestiços e sem raça definida para a produção de carne e pele, com baixa produtividade e tecnificação.

Palavras-chave: Brucelose ovina, epidemiologia, IDGA, ocorrência, sorologia

SUMMARY

In order to analyze the occurrence of antibodies to *Brucella ovis* in sheep of properties located in the microregion of Juazeiro, Bahia State, Brazil, a survey was conducted in sheep herds in the eight cities that make up the microregion (Juazeiro, Casa Nova, Remanso, Campo Alegre de Lourdes, Pilão Arcado, Sento Sé, Sobradinho and Curaçá). Some features of management were inquired from the application of epidemiological questionnaires. The agar gel immunodiffusion test (AGID) was used to examine 694 serum samples of 58 herds. Antibodies to *B. ovis* were found in 5 (0,72%) of the investigated animals and no statistically significant differences were observed in the proportion of positive animals with reference to sex and age. Five properties (8,62%) showed positive animals. It is believed the low number of positive sheep found in this survey is related to the production systems features. The microregion of Juazeiro is characterized by a semi-arid climate and the predominant management system is the extensive one, with a presence of native and crossbred animals, aiming at the production of meat and fleece, with low productivity and technification.

Keywords: AGID, epidemiology, occurrence, ovine brucellosis, serology

INTRODUÇÃO

Na Nova Zelândia, em 1953, uma doença genital de ovinos, caracterizada por diminuição da fertilidade em carneiros, abortamento em ovelhas e elevada mortalidade neonatal estava sendo associada a microrganismos do gênero *Brucella*. Notou-se, entretanto, que as cepas isoladas eram distintas de outros grupos de *Brucella* já estabelecidos, o que justificou a constituição de uma nova espécie, a *Brucella ovis* (BUDDLE, 1956).

A *B. ovis* tem despertado grande interesse devido ao aumento da criação de ovinos em todo o mundo e ao conhecimento sobre a sua disseminação nos rebanhos (LIRA & MEGID, 2009). É um microrganismo que desencadeia doença crônica e possui distribuição mundial, causando grande impacto negativo nos países onde a ovinocultura é uma atividade econômica importante (FICAPAL et al., 1998; ROBLES et al., 1998; ESTEIN, 1999; QUISPE et al., 2002). No Brasil, esse agente foi descrito inicialmente por Ramos et al. (1966), no Rio Grande do Sul, sendo isolado posteriormente por Blobel et al. (1972).

A brucelose ovina causada por *B. ovis* caracteriza-se por epididimite nos machos, abortamento nas fêmeas, ocorrência de natimortos, nascimento de cordeiros fracos e aumento da mortalidade perinatal, provocando a diminuição da eficiência reprodutiva dos rebanhos (LIBAL & KIRKBRIDE, 1983; MAGALHÃES NETO & GIL-TURNES, 1996).

O tratamento raramente é empreendido por razões econômicas e também devido à sobrevivência da bactéria dentro do macrófago, dificultando a ação de antibióticos (ESTEIN, 1999). A principal forma de controle da infecção se dá pela identificação e remoção de animais infectados através de exames clínicos e sorológicos, bem como

prevenindo-se novas infecções (MARINHO & MATHIAS, 1996; SILVA et al., 2003; AZEVEDO et al., 2004).

Inquéritos sorológicos realizados no Brasil demonstraram resultados diversos, com algumas regiões apresentando maiores frequências de animais positivos, como no Rio Grande do Norte (SILVA et al., 2003), Pernambuco (COLETO et al., 2003) e Rio Grande do Sul (MAGALHÃES NETO & GIL-TURNES, 1996) e outras com ocorrência mais baixa ou nula, como em Alagoas (PINHEIRO JUNIOR et al., 2009), São Paulo (RIZZO et al., 2009) e Santa Catarina (SCHÄFER et al., 1997).

Na Bahia, Silva et al. (2009) demonstraram a presença da infecção por *B. ovis* em rebanhos comerciais de ovinos do Recôncavo e ressaltaram a necessidade de estudos mais amplos bem como a adoção de medidas sanitárias de controle e prevenção para evitar a propagação deste agente no estado.

A ovinocultura no Nordeste brasileiro possui grande relevância sócio-econômica, pois é uma das principais fontes financeiras para as populações de baixa e média renda (ALMEIDA et al., 2003). No semiárido baiano, por exemplo, o homem do campo utiliza a agricultura e a pecuária, que em sua maioria é de rebanho de caprinos e ovinos, como modo de vida. Na Microrregião de Juazeiro – Bahia (BA), essa atividade familiar tem experimentado um desenvolvimento sem precedentes (SOUZA, 2004).

Com as perspectivas de crescimento da ovinocaprinocultura e melhoria dos rendimentos do produtor, a adoção de normas sanitárias torna-se imprescindível diante de tantas enfermidades que podem comprometer essa cadeia produtiva. Por outro lado, para a implantação de um programa sanitário, necessita-se de informações acerca da ocorrência das doenças e do impacto delas nesse cenário econômico. Sendo assim, este trabalho teve por objetivo a condução de inquérito soro-epidemiológico da *B. ovis* na Microrregião de Juazeiro, que possui uma das maiores concentrações de ovinos do país.

MATERIAL E MÉTODOS

Este inquérito foi conduzido na Microrregião de Juazeiro - BA, também conhecida como Região do Baixo Médio São Francisco, localizada na parte setentrional do estado, constituída por oito municípios: Juazeiro, Sobradinho, Curaçá, Casa Nova, Campo Alegre de Lourdes, Pilão Arcado, Remanso e Sento Sé (BAHIA, 2009). Dentre as principais características desta região, se destacam o clima semiárido, a presença do Rio São Francisco e do Lago de Sobradinho, a agricultura irrigada e o Pólo Agroindustrial de Petrolina-Juazeiro, produtor e exportador de frutas. Além disso, essa região possui uma das maiores concentrações de ovinos do país, com 614.782 ovinos, o equivalente a aproximadamente 23% do rebanho baiano e 4,3% do rebanho nacional, de acordo com o Censo Agropecuário de 2006 (IBGE, 2010).

O tamanho aproximado da amostra foi calculado segundo Thrusfield (2004), com nível de confiança de 95% e precisão absoluta desejada de 5%. De forma a maximizar o número de amostras, utilizou-se a prevalência esperada de 50%, resultando em 384 amostras mínimas necessárias. Entretanto, foram analisadas 694 amostras oriundas de 58 rebanhos selecionados por método não probabilístico, já que não havia listas de propriedades rurais que possibilitassem a amostragem aleatória.

A amostragem foi distribuída entre os oito municípios que compõem a Microrregião de Juazeiro, proporcionalmente a participação de cada um deles no rebanho total da microrregião, levando-se em consideração os dados relativos à pecuária divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2007 (Tabela 10).

A idade dos animais foi estimada com base na arcada dentária, sendo utilizados na pesquisa aqueles com mais de seis meses de idade. Após anti-sepsia adequada, as amostras de sangue foram colhidas através da venopunção da jugular, utilizando-se

tubos a vácuo. Em seguida, após a formação de coágulo, os tubos foram centrifugados a 1.500g por 10 minutos para a obtenção dos soros, que foram acondicionados em tubos tipo *ependorf*, identificados e estocados a -20°C até a realização do teste sorológico.

Tabela 10. Número de amostras mínimas a serem testadas para *Brucella ovis* por município da Microrregião de Juazeiro - Bahia.

Municípios	Rebanho (IBGE, 2007)	Participação no rebanho total (%)	Nº mínimo de amostras
Juazeiro	162.781	22,56	87
Sobradinho	6.302	0,87	03
Curaçá	72.822	10,10	39
Casa Nova	127.144	17,62	67
Campo Alegre de Lourdes	65.646	9,10	35
Pilão Arcado	61.501	8,53	33
Remanso	172.883	23,96	92
Sento Sé	52.366	7,26	28
Total	721.445	100	384

A sorologia para detecção de anticorpos anti-*B. ovis* foi realizada pelo método de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), utilizando-se kits produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). O antígeno consiste de proteínas e lipopolissacarídeos solúveis, extraídos da bactéria *B. ovis*, amostra Reo 198. A metodologia foi conduzida baseando-se nas recomendações do fabricante.

As propriedades visitadas foram cadastradas e os animais que participaram da pesquisa foram registrados com brincos numerados quando permitido pelo proprietário. Além disso, aplicou-se um questionário abordando dados dos sistemas de criação, objetivando-se caracterizá-los para avaliar o resultado da sorologia.

A partir das informações colhidas nos questionários, calcularam-se intervalos de confiança para proporção da população, considerando que este é um estudo observacional (MARTINS, 2006). A caracterização da significância entre as diferenças

observadas nas frequências de animais positivos segundo o sexo e a faixa etária foi determinada através do teste de Qui-Quadrado (ARANGO, 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram testadas 694 amostras de soro de ovinos pertencentes a 58 propriedades situadas em oito municípios da Microrregião de Juazeiro-BA, utilizando-se a técnica de IDGA, sendo que 0,72% (5/694) dos animais apresentaram anticorpos contra *B. ovis* (Tabela 11) e 8,62% (5/58) das propriedades possuíram animal soropositivo (Tabela 12).

Tabela 11. Número de soros de ovinos testados por imunodifusão em gel de ágar para *Brucella ovis* na Microrregião de Juazeiro – Bahia.

Município	Nº de amostras colhidas	Nº de positivos	Prevalência (%)
Juazeiro	156	0	0
Sobradinho	10	0	0
Curaçá	72	0	0
Casa Nova	120	0	0
Campo Alegre de Lourdes	60	1	1,67
Pilão Arcado	60	1	1,67
Remanso	168	2	1,19
Sento Sé	48	1	2,08
Total	694	5	0,72

Tabela 12. Número de propriedades visitadas para levantamento sorológico de *Brucella ovis* em rebanhos ovinos na Microrregião de Juazeiro – Bahia.

Município	Nº de propriedades pesquisadas	Nº de propriedades positivas	Prevalência (%)
Juazeiro	13	0	0
Sobradinho	01	0	0
Curaçá	06	0	0
Casa Nova	10	0	0
Campo Alegre de Lourdes	05	1	20
Pilão Arcado	05	1	20
Remanso	14	2	14,29
Sento Sé	04	1	25
Total	58	5	8,62

Neste estudo, observou-se que 89,6% (81,74% - 97,46%) das propriedades visitadas adotavam sistema extensivo de criação; 10,4% (2,54% - 18,26%) o sistema semi-intensivo e não foi observada propriedade com o sistema intensivo (Tabela 13). Magalhães Neto & Gil-Turnes (1996) verificaram maior soropositividade para *B. ovis* em animais mantidos em regime de cabanha que nos mantidos a campo, justificando este dado aos fatores de manejo, como maior concentração em espaços reduzidos.

Tabela 13. Características gerais das 58 propriedades visitadas na Microrregião de Juazeiro – Bahia para levantamento sorológico de *Brucella ovis*.

Critério	Propriedades			
	Nº	%	IC* (%)	
Sistema de criação	Intensivo	0	0	0
	Extensivo	52	89,6	81,74 – 97,46
	Semi-intensivo	6	10,4	2,54 – 18,26
Acompanhamento técnico	Sim	24	41,4	28,72 – 54,08
	Não	34	58,6	45,92 – 71,28
Cura do umbigo	Sim/iodo	7	12,1	3,71 – 20,49
	Sim/repelente	16	27,6	16,10 – 39,10
	Sim/outro produto	10	17,2	7,49 – 26,91
	Sim/produto não informado	6	10,4	2,54 – 18,26
	Não	19	32,7	20,63 – 44,77
Origem do rebanho	Local	40	69	57,10 – 80,90
	Local e outros municípios	14	24,1	13,09 – 35,11
	Local, outros estados e países	4	6,9	0,38 – 13,42
Presença de raças importadas	Sim	11	19	8,9 – 29,1
	Não	47	81	70,9 – 91,10
Tipo de exploração	Corte	10	17,2	7,49 – 26,91
	Corte e pele	44	75,9	64,9 – 86,9
	Genética	4	6,9	0,38 – 13,42
Reprodução	Monta natural	52	89,7	81,88 – 97,52
	Monta controlada	4	6,9	0,38 – 13,42
	Inseminação artificial	2	3,4	0 – 8,06
	Transferência de embrião	3	5,2	0 – 10,91

*IC=Intervalo com 95% de confiança para a proporção.

Já Pinheiro Junior et al. (2009) verificaram maior soropositividade em sistemas extensivos. Entretanto, Clementino et al. (2007) não observaram diferença significativa entre os animais criados de forma extensiva e os de forma intensiva/semi-intensiva, apesar de a *odds ratio* ter demonstrado que os animais do sistema extensivo possuíam duas vezes mais risco de contraírem a infecção. Os autores ressaltaram que isto pode

estar associado ao tamanho das explorações, uma vez que rebanhos menores possibilitam a identificação mais fácil e a eliminação de reprodutores com lesões escrotais.

Na Microrregião de Juazeiro-BA, apesar da predominância de sistemas extensivos, a prevalência observada foi baixa. Além disso, todas as propriedades que apresentaram animal soropositivo possuíam criação extensiva. Por isso, acredita-se que o tipo de sistema não pode ser analisado como fator predisponente de forma isolada. Na Espanha, por exemplo, Ficapal et al. (1998) não observaram diferença estatística significativa de soropositividade entre rebanhos pequenos ou médios e grandes. Isto pode ser explicado, segundo os autores, em parte pelo fato de os proprietários dos grandes rebanhos possuírem maior nível técnico e melhores práticas de manejo.

Por outro lado, isso não se aplica aos rebanhos estudados, pois independentemente do tamanho, observou-se baixa qualidade técnica nas práticas de criação. Apenas 41,4% (28,72% - 54,08%) das propriedades possuíam acompanhamento técnico (Tabela 13) que era, em sua maior parte, realizado de forma irregular por programa estadual que foi desativado. Procedimento profilático básico, como a cura do umbigo de recém-nascidos com a tintura de iodo, só foi observado em 12,1% (3,71% - 20,49%) dos rebanhos visitados (Tabela 13).

Nessa região, existe um sistema extensivo de criação conhecido como “Fundo de Pasto”, onde as propriedades não são registradas, não existe divisão de pastagens, são áreas comuns onde os animais de vários proprietários são criados de forma coletiva (SOUZA et al., 2010). Levando-se em consideração essas características, verifica-se que a *B. ovis* possui condições favoráveis de disseminação nesses rebanhos. Entretanto, os resultados sorológicos não refletiram essa tendência e isso pode ser justificado quando outros fatores são analisados.

A maior parte dos animais que constituíam os rebanhos tinha origem local. Apenas em 6,9% (0,38% - 13,42%) das propriedades observaram-se animais com origem em outros estados e/ou países (Tabela 13). Além disso, a maioria dos rebanhos possuía animais de raças nativas como Santa Inês, Morada Nova e Rabo Largo, mestiços e sem raça definida (SRD), sendo que apenas 19% (8,9% - 29,1%) das propriedades visitadas possuíam animais de raças importadas (Tabela 13), como a Dorper. Na Espanha, Ficapal et al. (1998) verificaram maiores percentuais de soropositividade e alterações testiculares macroscópicas em animais de raças importadas, quando comparados com os de raças locais.

A ocorrência de *B. ovis* está historicamente relacionada com a introdução de animais infectados. O primeiro isolamento de *B. ovis* no Brasil foi realizado no Rio Grande do Sul após notificações de elevada mortalidade de cordeiros, ocorrência de natimortos, abortamentos e epididimite nos machos, associadas à entrada de animais oriundos de países nos quais a doença já tinha sido diagnosticada (RAMOS et al., 1966; BLOBEL et al., 1972).

A introdução de outros agentes infecciosos, como os lentivírus de pequenos ruminantes (PINHEIRO et al., 2001; ALMEIDA et al., 2003; PINHEIRO et al., 2004; SOUZA et al., 2007; MARTINEZ et al., 2010) e o vírus da língua azul (MELO et al., 2000; SOUZA et al., 2010) em áreas livres também está relacionada com a importação e intenso trânsito de animais, principalmente visando o melhoramento genético, entretanto sem os devidos cuidados, como realização de exames para prevenção de novas enfermidades.

Martinez et al. (2010) verificaram a ocorrência de anticorpos contra o vírus da maedi-visna em 0,34% (4/919) dos animais testados na Microrregião de Juazeiro, justificando que provavelmente a baixa prevalência foi devida à predominância de

animais nativos, mestiços e SRD, dentre outros fatores. Souza et al. (2010), nessa mesma região, observaram a frequência de 0,43% (2/469) de animais soropositivos para língua azul, justificando a baixa prevalência através de diversos fatores ligados aos sistemas de criação e ao ambiente, que contribuíram para a baixa circulação viral.

Sendo assim, como na Microrregião de Juazeiro a maior parte das propriedades pesquisadas possuía o tipo de exploração para corte e pele (Tabela 13), o trânsito animal se dá mais em função da comercialização de animais visando o abate e não o melhoramento genético com a introdução de raças importadas. Isso pode explicar a baixa soropositividade observada para *B. ovis* nesses rebanhos, apesar de não haver o controle do trânsito de ovinos com base neste agente infeccioso.

No semiárido paraibano, os produtores costumam adquirir tanto reprodutores como matrizes e animais solteiros sem qualquer atestado sanitário, introduzindo-os em seus rebanhos para posteriormente comercializá-los novamente, podendo construir, dessa forma, uma importante rota de transmissão desse microrganismo entre rebanhos (CLEMENTINO et al., 2007).

Com a expansão da ovinocaprinocultura e o conseqüente estímulo ao crescimento da produção de pequenos ruminantes na Microrregião de Juazeiro (SOUZA, 2004), inclusive com o fomento de órgãos governamentais, observou-se a tendência de se utilizar métodos de melhoramento animal para aumentar a produtividade dos rebanhos nativos e sem raça definida, inclusive com a introdução de animais de raças importadas de outros países, como a Dorper.

Devido a isso, medidas sanitárias devem ser adotadas por órgãos competentes para evitar a propagação de agentes infecciosos. Além disso, trabalhos de extensão são ferramentas imprescindíveis para a prevenção dessa e de outras enfermidades, como a

artrite-encefalite caprina e maedi-visna, uma vez que os produtores não podem prevenir algo que não sabem que existe.

Silva et al. (2003) relacionaram a elevada prevalência sorológica observada no Rio Grande do Norte para *B. ovis* à não adoção de métodos de controle, como eliminação de carneiros positivos e separação de machos jovens e adultos. Azevedo et al. (2004) alertaram que para prevenir a propagação do agente infeccioso, medidas sanitárias devem ser adotadas nas propriedades, como exame clínico e sorológico dos animais.

Quando se analisa a ocorrência de anticorpos anti-*B. ovis* com relação ao objetivo da exploração, observa-se que propriedades com finalidade de criar animais para reprodução, onde há assistência veterinária para avaliação frequente dos animais e cuidados higiênico-sanitários, a ocorrência de soropositivos é menor ou nula. Já em criações para subsistência e de cria/recria/engorda, espera-se que a frequência de soropositivos seja maior devido à deficiência do manejo sanitário do rebanho (CLEMENTINO et al., 2007).

Das propriedades visitadas, 89,7% (81,88% - 97,52%) realizavam monta natural e apenas 3,4% (0 - 8,06%) utilizavam a inseminação artificial (Tabela 13). Apesar de a maior parte das propriedades visitadas não visarem à reprodução como método de exploração e não terem assistência veterinária regular, a prevalência sorológica observada foi baixa, provavelmente em consequência de outros fatores que minimizaram as possibilidades de introdução da *B. ovis* nesses rebanhos.

Dos cinco animais soropositivos, quatro eram fêmeas e um era macho (Tabela 14), mas não houve diferença estatística significativa.

Silva et al. (2009) não observaram associação significativa entre a frequência de animais positivos e o sexo, ou seja, machos e fêmeas estariam igualmente expostos ao risco de infecção. Silva et al. (2003) também não verificaram diferença significativa

entre a proporção de fêmeas e machos positivos. Entretanto, Pinheiro Junior et al. (2009) detectaram maior número de fêmeas positivas.

Tabela 14. Frequência de ovinos soropositivos para *Brucella ovis*, segundo o sexo, na Microrregião de Juazeiro-Bahia.

Sexo	Imunodifusão em gel de ágar			
	Animais reagentes	%	Total de amostras	%
Macho	1	0,14	145	20,9
Fêmea	4	0,58	549	79,1
Total	5	0,72	694	100

$\chi^2 = 0,6152$

Quanto à faixa etária, três animais soropositivos tinham mais de três anos e dois possuíam menos de três anos de idade (Tabela 15), mas não houve diferença estatística significativa. Azevedo et al. (2004) e Silva et al. (2009) não observaram associação significativa entre frequência de animais positivos e a faixa etária.

Tabela 15. Frequência de ovinos soropositivos para *Brucella ovis*, segundo a faixa etária, na Microrregião de Juazeiro-Bahia.

Idade	Imunodifusão em gel de ágar			
	Animais reagentes	%	Total de amostras	%
< 03 anos	2	0,29	315	45,4
>03 anos	3	0,43	379	54,6
Total	5	0,72	694	100

$\chi^2 = 0,8354$

Entretanto, Magalhães Neto & Gil Turnes (1996) demonstraram a influência da idade na frequência de animais positivos, sendo a soropositividade e as manifestações clínicas quatro vezes maiores nos animais com mais de quatro anos de idade, quando comparados com o grupo de um ano de idade.

Silva et al. (2003) também detectaram maior percentual de adultos soropositivos quando comparados a jovens, com diferença estatística significativa. Já Pinheiro Junior

et al. (2009) constataram maior frequência de animais positivos na faixa etária superior a 24 meses, contudo este resultado não foi estatisticamente significativo.

A epididimite por *B. ovis* é uma enfermidade principalmente de carneiros adultos com experiência sexual prévia (ROBLES et al., 1998). Animais muito jovens, com pouca experiência sexual ou animais mais velhos, com atividade sexual diminuída, são menos expostos à infecção (FICAPAL et al., 1998).

Inquéritos sorológicos realizados em diferentes regiões do Brasil têm apontado frequência variada para anticorpos contra *B. ovis*, utilizando a técnica de IDGA, alguns também a de fixação de complemento (FC) (Tabela 16).

Tabela 16. Frequência de propriedades e animais positivos para *Brucella ovis* em estudos conduzidos com rebanhos ovinos em diferentes regiões do país.

Estado	Animais soropositivos	Propriedades positivas	Método	Autores
Rio Grande do Norte	34% (103/290)	-	IDGA* ¹	Silva et al. (2003)
	11,3% (13/115)	-	IDGA	Azevedo et al. (2004)
Paraíba	5,57% (28/498)	8,59% (25/283)	IDGA e FC* ²	Clementino et al. (2007)
	7,5% (6/80)	-	IDGA	Alves et al. (2010)
Pernambuco	16,25% (26/160)	-	IDGA	Coletto et al. (2003)
Alagoas	3,1% (18/579)	37,03% (10/27)	IDGA	Pinheiro Junior et al. (2009)
Bahia	3,28% (6/183)	-	IDGA	Silva et al. (2009)
São Paulo	0% (0/850)	0% (0/18)	IDGA e FC	Marinho & Mathias (1996)
	1,96% (4/204)	-	IDGA	Rizzo et al. (2009)
	12% (124/1033)	-	IDGA	Nozaki et al. (2004)
Santa Catarina	0% (0/69)	0% (0/20)	IDGA	Schäfer et al. (1997)
Rio Grande do Sul	13,43% (220/1638)	-	IDGA	Magalhães Neto & Gil-Turnes (1996)

*¹IDGA=imunodifusão em gel de ágar

*²FC=fixação de complemento

O diagnóstico da infecção por *B. ovis* pode ser realizado utilizando-se critérios clínicos, bacteriológicos ou sorológicos (FICAPAL et al., 1998; ESTEIN, 1999). Métodos clínicos e bacteriológicos não são adequados para a detecção da doença em um número muito grande de ovinos, porque ambos os métodos falham ao detectar todos os animais infectados (NOZAKI et al., 2004). Por isso, o diagnóstico da brucelose ovina se realiza geralmente através de provas sorológicas, sendo as mais utilizadas as de FC, IDGA e ELISA (ROBLES, 1998).

Dos inquéritos sorológicos apresentados na Tabela 16, oito foram conduzidos utilizando o kit do TECPAR (COLETO et al., 2003; SILVA et al., 2003; AZEVEDO et al., 2004; NOZAKI et al., 2004; CLEMENTINO et al., 2007; PINHEIRO JUNIOR et al., 2009; RIZZO et al., 2009; ALVES et al., 2010), de forma semelhante a este trabalho. O antígeno deste kit é produzido a partir da amostras Reo 198 de *B. ovis*. Schäfer et al. (1997) e Silva et al. (2009) utilizaram antígeno produzido pelo Instituto de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor (IPVDF), também a partir da cepa Reo 198. Marinho & Mathias (1996) conduziram os testes sorológicos com antígeno de *B. ovis* produzido com a amostra 63/290 e Magalhães Neto & Gil-Turnes (1996) realizaram os testes com o antígeno da amostra CPZ 11 de *B. ovis*.

A sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos dependem principalmente dos antígenos utilizados. O antígeno produzido com a amostra de *B. ovis* Reo 198 a partir de extrato salino obtido por aquecimento obteve os melhores resultados nos testes de FC, IDGA e ELISA. Estudos comparativos demonstraram que o teste de ELISA é mais sensível (97,6%) que o de IDGA (96,4%) e o de FC (92,7%). Os três testes apresentaram especificidade de 100% (MARÍN et al., 1989). No entanto, a maior sensibilidade do ELISA pode acarretar em resultados falso-positivos (MARINHO & MATHIAS, 1996).

Robles (1998) também verificou especificidade de 100% para o teste de IDGA, utilizando o antígeno de extrato salino aquecido a partir da cepa Reo 198 de *B. ovis*. Quanto à sensibilidade, houve uma variação de 97,10% quando foram avaliados carneiros naturalmente infectados para 91,23% quando a análise foi conduzida com carneiros infectados experimentalmente.

No que diz respeito à apresentação de sinais clínicos da epididimite ovina nos rebanhos estudados, como as amostras testadas foram oriundas de levantamento epidemiológico para outras doenças, não foi realizado exame específico do aparelho genital.

Em outros inquéritos epidemiológicos conduzidos no Brasil, apesar da observação de animais soropositivos para *B. ovis* ao teste de IDGA, não foram verificados sinais clínicos nos animais (COLETO et al., 2003; AZEVEDO et al., 2004; NOZAKI et al., 2004; PINHEIRO JUNIOR et al., 2009; SILVA et al., 2009). O exame clínico para o diagnóstico conclusivo da *B. ovis* tem valor limitado, pois existem animais infectados sem sinais clínicos, além de outros patógenos poderem estar envolvidos na etiologia da epididimite (FICAPAL et al., 1998).

Levando-se em consideração os resultados expostos, foi possível verificar que a frequência de animais soropositivos para *B. ovis* na Microrregião de Juazeiro foi baixa. Entretanto, isso ocorreu devido ao modo de criação predominante na região, que minimizou as possibilidades de introdução do agente e não pela adoção de medidas de prevenção.

Logo, propostas para a adequação sanitária desses sistemas de criação devem ser pesquisadas e aplicadas, levando-se em consideração a inclusão dos criadores na cadeia de conhecimentos, através da consorciação da pesquisa e extensão. Além disso, a condução de inquéritos epidemiológicos é imprescindível em outras regiões do estado e

do país para melhor esclarecer a importância da *B. ovis* no cenário econômico da ovinocultura.

AGRADECIMENTOS

Aos criadores de ovinos da Microrregião de Juazeiro pela disponibilidade dos animais para que as coletas pudessem ser realizadas; a Fundação de Amparo a Pesquisa do estado da Bahia (FAPESB) pelo financiamento do projeto; ao Centro de Desenvolvimento da Pecuária da Escola de Medicina Veterinária da UFBA, ao Laboratório de Doenças Infecciosas do Hospital Veterinário da UFBA e à Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e Parnaíba (CODEVASF 6ªSR) pelo apoio técnico.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, N.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; FERREIRA, R.C.S.; CALLADO, A.K.C.; FROTA, M.N.L.; MELO, A.C.M.; APRIGIO, C.J.L. Detecção de ovinos soropositivos para Maedi/Visna destinados ao abate na região metropolitana de Fortaleza. **Veterinária Notícias**, v.9, n.1, p. 59-63, 2003.

ALVES, C.J.; FIGUEIREDO, S.M.; AZEVEDO, S.S.; CLEMENTINO, I.J.; KEID, L.B.; VASCONCELLOS, S.A.; BATISTA, C.S.A.; ROCHA, V.C.M.; HIGINO, S.S. Detection of *Brucella ovis* in ovine from Paraíba State, in the Northeast Region of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, p.365-367, 2010.

ARANGO, H.G. **Bioestatística: Teórica e Computacional**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 423p.

AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; ALVES, F.A.L.; CLEMENTINO, I.J.; BATISTA, C.S.A.; AZEVEDO, A.S. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Agropecuária Técnica**, v.25, n.2, p.45-50, 2004.

BAHIA. Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia. **Região Econômica Baixo Médio São Francisco – estado da Bahia**. Disponível em: <http://www.sei.ba.gov.br/site/geoambientais/cartogramas/regioes_eco/pdf/regecon_bax_medio_sf.pdf> Acesso em 04 ago. 2009.

BLOBEL, H.; FERNANDES, J.C.T.; MIES FILHO, A.; RAMOS, A.A.; TREIN, E.J. Estudos sobre a etiologia da epididimite ovina no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.7, p.1-4, 1972.

BUDDLE, M.B. Studies on *Brucella ovis* (n. sp.), a cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia. **J. Hyg.**, v.54, p.351-364, 1956.

CLEMENTINO, I.J.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S.; PAULIN, L.M.; MEDEIROS, K.A. Inquérito soro-epidemiológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.4, p.137-143, 2007.

COLETO, Z.F.; PINHEIRO JUNIOR, J.W.; MOTA, R.A.; GUERRA, M.M.P.; SIMPLÍCIO, K.M.M.G.; CÂMARA, D.R.; SOARES, R.P.T.; PORTO, W.J.N.; CINTRA JUNIOR, J.E.; FAUSTINO, M.G.; SOUZA, A.F.; BERTO, R.S. Ocorrência de infecção por *Brucella ovis* em ovinos do Estado de Pernambuco e sua participação em distúrbios reprodutivos nesta espécie (estudos preliminares). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.3, p.551-552, 2003.

ESTEIN, S.M. Aspectos inmunológicos en el diagnóstico y control de la epidemitis contagiosa del carnero por *Brucella ovis*. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.31, n.1, p.5-17, 1999. doi: 10.4067/S0301-732X1999000100001

FICAPAL, A.; JORDANA, J.; BLASCO, J.M.; MORIYÓN, I. Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. **Small Ruminant Research**, v.29, p.13-19, 1998.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pecuária 2004 - Rebanho ovino**. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 24 fev. 2007.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2006 - Rebanho ovino**. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em 22 abr. 2010.

LIBAL, M.C.; KIRKBRIDE, C.A. *Brucella ovis*-induced abortion in ewes. **JAVMA**, v.183, n.5, p.553-554, 1983.

LIRA, N.S.C.; MEGID, J. Patogenia da brucelose ovina. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.2, p.280-289, 2009

MAGALHÃES NETO, A.; GIL-TURNES, C. Brucelose ovina no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.16, n.2/3, p.75-79, 1996.

MARÍN, C.M.; JIMÉNEZ DE BAGUÉS, M.P.; BLASCO, J.M.; GAMAZO, C.; MORIYÓN, I.; DÍAZ, R. Comparison of three serological tests for *Brucella ovis* infection of rams using different antigenic extracts. **The Veterinary Record**, v.125, p.504-508, 1989.

MARINHO, M.; MATHIAS, L.A. Pesquisa de anticorpos contra *Brucella ovis* em ovinos do estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.16, n.2/3, p.45-48, 1996.

MARTINEZ, P.M.; COSTA, J.N.; SOUZA, T.S.; COSTA NETO, A.O.; PINHEIRO, R.R. Sistemas de criação de ovinos e ocorrência de anticorpos contra o vírus da Maedi-Visna na Microrregião de Juazeiro – Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, n.2, p.342-353, 2010.

MARTINS, G.A. **Estatística Geral e Aplicada**. 3. ed. São Paulo: Atlas, 2006. 428p.

MELO, C.B.; OLIVEIRA, A.M.; AZEVEDO, E.O.; LOBATO, Z.I.P.; LEITE, R.C. Anticorpos contra o vírus da língua azul em bovinos do sertão da Paraíba. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.1, p.19-20, 2000.

NOZAKI, C.N.; MEGID, J.; LIMA, K.C.; SILVA JUNIOR, 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. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, n.1, p.1-5, 2004.

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F. Prevalência da infecção pelo vírus da Artrite-Encefalite Caprina no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v.31, n.3, p.449-454, 2001.

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F.; ANDRIOLI, A. Perfil de propriedades no estado do Ceará relacionado à presença do lentivírus caprino. **Ciência Animal**, v.14, n.1, p.29-37, 2004.

PINHEIRO JUNIOR, J.W.; OLIVEIRA, A.A.F.; MOTA, R.A.; AGOTTANI, J.V.; JESUS, E.M.; ASSIS, S.T.; OLIVEIRA, C.Z. Ocorrência de ovinos sororeatores para *Brucella ovis* no estado de Alagoas, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.3, p.500-508, 2009.

QUISPE, R.Ch.; RIVERA, H.G.; ROSADIO, R.A. Cinética de la infección por *Brucella ovis* en carneros durante una época de empadre. **Revista de Investigación Veterinaria de Perú**, v.13, n.1, p.61-66, 2002.

RAMOS, A.A.; MIES FILHO, A.; SCHENCK, J.A.P.; VASCONCELLOS, L.D.; PRADO, O.T.G.; FERNANDES, J.C.T.; BLOBEL, H. Epididimite ovina. Levantamento clínico no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.1, p.211-213, 1966.

RIZZO, H.; GREGORY, L.; PINHEIRO, E.S.; CARVALHO, A.F.; SANTANA, R.L.; SILVA, L.M.P. Incidência de *Brucella ovis* em ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos no estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, suplemento I, 2009.

ROBLES, C.A. Evaluación de una técnica de doble difusión em gel de agar para el diagnóstico de la infección por *Brucella ovis* em carneiros. **Veterinária Argentina**, v. 15, n.142, p.119-125, 1998.

SCHÄFER, I.; VAZ, A.; RAMELLA, J.; COUTINHO, G. Prevalência de carneiros reagentes à prova de imunodifusão em gel para *Brucella ovis* no município de Lages-SC. **A Hora Veterinária**, v.17, n.99, p.60-61, 1997.

SILVA, J.B.A.; FEIJO, F.M.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; SILVA, J.S. Prevalência de brucelose ovina causada por *Brucella ovis* em rebanhos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Animal**, v.13, n.1, p.51-54, 2003.

SILVA, N.S.; BARROS, I.N.; DASSO, M.G.; ALMEIDA, M.G.A.R.; LABORDA, S.S.; ANUNCIACÃO, A.V.M.; MOREIRA, E.L.T.; LIMA-SILVA, A.E.; OLIVEIRA, E.M.D. Detecção de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos do estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.4, p.852-859, 2009.

SOUZA, R.L. Agricultura familiar e pluriatividade no semi-árido baiano. **Bahia Análises & Dados**, v.13, n.4, p. 921-930, 2004.

SOUZA, T.S.; COSTA, J.N.; MARTINEZ, P.M.; PINHEIRO, R.R. Estudo sorológico da Maedi-Visna pelo método de imunodifusão em gel de ágar em rebanhos ovinos de Juazeiro, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.4, p.276-282, 2007.

SOUZA, T.S.; COSTA, J.N.; MARTINEZ, P.M.; COSTA NETO, A.O.; PINHEIRO, R.R. Anticorpos contra o vírus da língua azul em rebanhos ovinos da Microrregião de Juazeiro, Bahia. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.3, p.419-427, 2010.

THRUSFIELD, M.V. Inquéritos. In: ___**Epidemiologia Veterinária**. 2ed. São Paulo: Roca. 2004. p.223-247.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A caprino-ovinocultura possui grande importância socio-econômica para a Microrregião de Juazeiro, Bahia, onde muitas famílias dependem desta atividade para obterem a principal fonte de renda. Além disso, a grande concentração de animais nessa região requer cuidados sanitários para os rebanhos.

Com o incentivo às criações de caprinos e ovinos no semiárido, há uma movimentação cada vez mais crescente de incrementar a produtividade da caprino-ovinocultura com a introdução de raças melhoradoras, colocando em risco os rebanhos nativos, caso não sejam tomadas medidas de prevenção contra a entrada de agentes infecciosos.

A implantação de um programa de sanidade de caprinos e ovinos no estado por órgãos competentes é extremamente necessária para viabilizar a adoção de medidas de controle e profilaxia de enfermidades, fortalecendo a cadeia produtiva de pequenos ruminantes. No entanto, sistemas de informações precisam ser organizados a partir da associação de diferentes grupos de pesquisa, para padronizar as técnicas de diagnóstico, fornecer dados e avaliar ações estratégicas.

Propostas de adequação sanitária dos sistemas de criação devem ser pesquisadas e aplicadas, considerando a inclusão dos criadores na cadeia de conhecimentos. Nesse sentido, trabalhos de extensão são ferramentas imprescindíveis para a prevenção de enfermidades através da melhor instrução dos produtores rurais, que assim poderão utilizar as tecnologias de produção disponíveis de forma mais racional.

Estudos têm demonstrado que o vírus da língua azul ocorre de forma endêmica em muitas regiões do país, sendo esse um dos motivos da maior resistência dos animais à

doença. Entretanto, os resultados sugeriram baixa circulação viral nos rebanhos ovinos da Microrregião de Juazeiro, justificando a realização de estudos mais amplos no estado com o propósito de esclarecer a possibilidade de ocorrência da doença nesses rebanhos, os sorotipos virais presentes, bem como a presença de mosquitos vetores nas diferentes regiões.

A partir dos resultados do inquérito epidemiológico, foi possível verificar a baixa frequência de animais soropositivos para *Brucella ovis* na Microrregião de Juazeiro. Isso não ocorreu devido à aplicação de medidas de prevenção nos rebanhos, mas sim em função do modo de criação predominante na região, que minimizou as possibilidades de introdução desse patógeno. Por outro lado, uma vez introduzido, esse agente possuirá condições favoráveis para a sua disseminação, devido ao manejo sanitário precário.

6. REFERÊNCIAS

- AFSHAR, A.; THOMAS, F.C.; WRIGHT, P.F.; SHAPIRO, J.L.; ANDERSON, J. Comparison of competitive ELISA, indirect ELISA and standard AGID tests for detecting blue-tongue virus antibodies in cattle and sheep. **The Veterinary Record**, v.124, n.6, p.136-141, 1989.
- ALMEIDA, N.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; FERREIRA, R.C.S.; CALLADO, A.K.C.; FROTA, M.N.L.; MELO, A.C.M.; APRIGIO, C.J.L. Detecção de ovinos soropositivos para Maedi/Visna destinados ao abate na região metropolitana de Fortaleza. **Veterinária Notícias**, v.9, n.1, p. 59-63, 2003.
- ALVES, C.J.; FIGUEIREDO, S.M.; AZEVEDO, S.S.; CLEMENTINO, I.J.; KEID, L.B.; VASCONCELLOS, S.A.; BATISTA, C.S.A.; ROCHA, V.C.M.; HIGINO, S.S. Detection of *Brucella ovis* in ovine from Paraíba State, in the Northeast Region of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, p.365-367, 2010.
- ALVES, F.A.L.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S.; SILVA, W.W.; SILVA, M.L.C.R.; LOBATO, Z.I.P.; CLEMENTINO, I.J. Soroprevalência e fatores de risco para a língua azul em carneiros das mesorregiões do Sertão e da Borborema, semi-árido do Estado da Paraíba, Brasil. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p.484-489, 2009.
- ARANGO, H.G. **Bioestatística: Teórica e Computacional**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 423p.
- ARAÚJO, J.T. O semi-árido e a transposição das águas do São Francisco. **Revista do Legislativo**, n.31, p.65-74, 2001.
- ASTUDILLO, V. M. **Encuestas por muestro para estudios epidemiológicos en poblaciones animales**. Rio de Janeiro: Organización Panamericana de la Salud – Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, 1979. 60p.
- AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; ALVES, F.A.L.; CLEMENTINO, I.J.; BATISTA, C.S.A.; AZEVEDO, A.S. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Agropecuária Técnica**, v.25, n.2, p.45-50, 2004.
- BAHIA. Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia. **Região Econômica Baixo Médio São Francisco – estado da Bahia**. Disponível em: <http://www.sei.ba.gov.br/site/geoambientais/cartogramas/regioes_eco/pdf/regecon_bax_medio_sf.pdf> Acesso em 04 ago. 2009.
- BALDWIN, C.A.; MOSIER, D.A.; ROGERS, S.J.; BRAGG, C.R. An outbreak of disease in cattle due to bluetongue virus. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.03, p.252-255, 1991.
- BATTEN, C.A.; BACHANEK-BANKOWSKA, K.; BIN-TARIF, A.; KGOSANA, L.; SWAIN, A.J.; CORTEYN, M.; DARPEL, K.; MELLOR, P.S.; ELLIOTT, H.G.; OURA, C.A.L. Bluetongue vírus: European Community inter-laboratory comparasion

tests to evaluate ELISA and RT-PCR detection methods. **Veterinary Microbiology**, v.129, p.80-88, 2008. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.11.005

BIBERSTEIN, E.L.; MCGOVAN, B.; OLANDER, H.; KENNEDY, P. Epididymitis in ram. Studies in pathogenesis. **Cornell Veterinary Medicine**, v.54, n.1, p.27-41, 1964.

BLOBEL, H.; FERNANDES, J.C.T.; MIES FILHO, A.; RAMOS, A.A.; TREIN, E.J. Estudos sobre a etiologia da epididimite ovina no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.7, p.1-4, 1972.

BONNEAU, K.R.; DEMAULA, C.D.; MULLENS, B.A.; MACLACHLAN, N.J. Duration of viraemia infectious to *Culicoides sonorensis* in bluetongue virus-infected cattle and sheep. **Veterinary Microbiology**, v.88, p.115-125, 2002.

BRASIL. **Instrução Normativa N. 17, de 10 de abril de 2003**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>> Acesso em 29 jun. 2010.

BRASIL. **Instrução Normativa N. 8, de 10 de março de 2006**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>> Acesso em 29 jun. 2010.

BRASIL. **Instrução Normativa N. 40, de 04 de setembro de 2007**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>> Acesso em 29 jun. 2010.

BUCKRELL, B.C.; MCEWEN, S.A.; JOHNSON, W.H.; SAVAGE, N.C. Epididymitis caused by *Brucella ovis* in a southern Ontario sheep flock. **The Canadian Veterinary Journal**, v.26, n.10, p.293-296, 1985.

BUDDLE, M.B. Studies on *Brucella ovis* (n. sp.), a cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia. **J. Hyg.**, v.54, p.351-364, 1956.

CARVALHO, L.F.R.; MELO, C.B.; DRUMMOND, V.O. Procedimentos para exportação e importação de material genético pelo Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.3, p.415-422, 2007.

CEBRA, C.; CEBRA, M. **Enfermidades dos sistemas hematológico, imunológico e linfático (doenças multissistêmicas)**. In: PUGH, D.G. Clínica de ovinos e caprinos. São Paulo: Roca, 2005, p.430-431.

CFSPH. The Center for Food Security & Public Health. **Ovine Epididymitis: *Brucella ovis***. Disponível em: <<http://www.cfsph.iastate.edu>> Acesso em 29 set. 2010.

CHAIGNAT, V.; WORWA, G.; SCHERRER, N.; HILBE, M.; EHRENSPERGER, F.; BATTEN, C.; CORTYEN, M.; HOFMANN, M.; THUER, B. Toggenburg Orbivirus, a new bluetongue virus: Initial detection, first observations in field and experimental infection of goats and sheep. **Veterinary Microbiology**, v.138, p.11-19, 2009.

CHANDEL, B.S.; CHAUHAN, H.C.; KHER, H.N. Comparison of the standard AGID test and competitive ELISA for detecting bluetongue virus antibodies in camels in Gujarat, India. **Tropical Animal Health and Production**, v.35, p.99-104, 2003.

CHAGAS, A.C.S.; PINHEIRO, R.R. **Língua Azul: conhecer para prevenir**. Documentos 49. Sobral: EMBRAPA Caprinos, 2003. 34p.

CLAVIJO, A.; SEPULVEDA, L.; RIVA, J.; PESSOA-SILVA, M.; TAILOR-RUTHES, A.; LOPEZ, J.W. Isolation of bluetongue virus serotype 12 from an outbreak of the disease in South America. **The Veterinary Record**, v.151, p.301-302, 2002.

CLEMENTINO, I.J.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S.; PAULIN, L.M.; MEDEIROS, K.A. Inquérito soro-epidemiológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.4, p.137-143, 2007.

CLERCQ, K.; LEEUW, I.; VERHEYDEN, B.; VANDEMEULEBROUCKE, E.; VANBINST, T.; HERR, C.; MÉROC, E.; BERTELS, G.; STEURBAUT, N.; MIRY, C.; BLEECKER, K.; MAQUET, G.; BUGHIN, J.; SAULMONT, M.; LEBRUN, M.; SUSTRONCK, B.; DEKEN, R.; HOOYBERGHS, J.; HOUDART, P.; RAEMAEEKERS, M.; MINTIENS, K.; KERKHOF, P.; GORIS, N.; VANDENBUSSCHE, F. Transplacental infection and apparently immunotolerance induced by a wild-type bluetongue virus serotype 8 natural infection. **Transboundary and Emerging Diseases**, v.55, p.352-359, 2008. doi: 10.1111/j.1865-1682.2008.01044.x

COLETO, Z.F.; PINHEIRO JUNIOR, J.W.; MOTA, R.A.; GUERRA, M.M.P.; SIMPLÍCIO, K.M.M.G.; CÂMARA, D.R.; SOARES, R.P.T.; PORTO, W.J.N.; CINTRA JUNIOR, J.E.; FAUSTINO, M.G.; SOUZA, A.F.; BERTO, R.S. Ocorrência de infecção por *Brucella ovis* em ovinos do Estado de Pernambuco e sua participação em distúrbios reprodutivos nesta espécie (estudos preliminares). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.3, p.551-552, 2003.

COSTA, J.R.R.; LOBATO, Z.I.P.; HERRMANN, G.P. et al. Prevalência de anticorpos contra o vírus da língua azul em bovinos e ovinos do sudoeste e sudeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.02, p. 273-275, 2006.

DIAS, R.P.; OLIVEIRA, A.A.F.; PINHEIRO, A.A.; BRITO, R.L.L.; FARIAS, D.A.; ARAGÃO, M.A.C.; PINHEIRO, R.R. Soroprevalência da Língua Azul em rebanhos ovinos de sete municípios do estado do Ceará, Brasil. **Archives of Veterinary Science**, v.12 (supl.), resumo 190, p. 272-273, 2007.

ELBERS, A.R.W.; BACKX, A.; EKKER, H.M.; VAN DER SPEK, A.N.; VAN RIJN, P.A. Performance of clinical signs to detect bluetongue virus serotype 8 outbreaks in cattle and sheep during the 2006-epidemic in the Netherlands. **Veterinary Microbiology**, v.129, p.156-162, 2008. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.10.034

EMBRAPA. **A região do vale do rio São Francisco**. Disponível em: <http://www.cnpma.embrapa.br/projetos/prod_int/regiaosf.html> Acesso em 31 de jul. de 2009.

ENSERINK, M. During a hot summer, bluetongue virus invades Northern Europe. **Science**, v.313, p.1218-1219, 2006.

ESTEIN, S.M. Aspectos inmunológicos en el diagnóstico y control de la epidemia contagiosa del carnero por *Brucella ovis*. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.31, n.1, p.5-17, 1999. doi: 10.4067/S0301-732X1999000100001

FICAPAL, A.; JORDANA, J.; BLASCO, J.M.; MORIYÓN, I. Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. **Small Ruminant Research**, v.29, p.13-19, 1998.

FIGUEIREDO, F.A.M.; OLIVEIRA, A.N.; LAGE, G.R.H.; CRUZ, L.C.G.; SACCHETTI, H.P.; PASSOS, A.H. Língua Azul – Presença de sintomas clínicos nos animais reagentes positivos em foco no município de Duque de Caxias, estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.29, n.1, p.20-23, 2007.

GALINDO, R.C.; MUÑOZ, P.M.; MIGUEL, M.J.; MARIN, C.M.; BLASCO, J.M.; GORTAZAR, C.; KOCAN, K.M.; LA FUENTE, J. Characterization of possible correlates of protective response against *Brucella ovis* infection in rams immunized with the *B. melitensis* Rev 1 vaccine. **Vaccine**, v.27, p.3039-3044, 2009.

GOUVEIA, A.M.G.; LIMA, F.A.; SOUSA, G.J.G. et al. Frequência sorológica da Maedi-Visna e Língua Azul em ovinos, em propriedades e matadouro na Paraíba. In: XI CONGRESSO LATINOAMERICANO, V CONGRESSO BRASILEIRO, III CONGRESSO NORDESTINO DE BUIATRIA, 2003, Salvador. **Anais...** Salvador: 2003a, p. 52. (Resumo).

GOUVEIA, A.M.G.; LIMA, F.A.; LOBATO, Z.I.P. et al. Língua Azul em ovinos e caprinos em Minas Gerais. In: XI CONGRESSO LATINOAMERICANO, V CONGRESSO BRASILEIRO, III CONGRESSO NORDESTINO DE BUIATRIA, 2003, Salvador. **Anais...** Salvador: 2003b, p. 51. (Resumo).

GRILLÓ, M.J.; MARÍN, C.M.; BARBERÁN, M.; BLASCO, J.M. Experimental *Brucella ovis* infection in pregnant ewes. **The Veterinary Record**, v.144, p.555-558, 1999.

GROOCOCK, C.M.; CAMPBELL, C.H. Isolation of an exotic serotype of bluetongue virus from imported cattle in quarantine. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v.46, p.160-164, 1982.

HOFMANN, M.A.; RENZULLO, S.; MADER, M.; CHAIGNAT, V.; WORWA, G.; THUER, B. Genetic characterization of Toggenburg Orbivirus, a new Bluetongue Virus, from goats, Switzerland. **Emerging Infectious Diseases**, v.14, n.12, p.1855-1861, 2008.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pecuária 2004 - Rebanho ovino**. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 24 fev. 2007.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pecuária 2006 - Rebanho ovino**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em 22 fev. 2008.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2006 - Rebanho ovino**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em 22 abr. 2010.

JOCHIM, M.M.; CHOW, T.L. Immunodiffusion of bluetongue virus. **American Journal of Veterinary Research**, v.30, p.33-41, 1969.

KONRAD, P.A.; RODRIGUES, R.O.; CHAGAS, A.C.P.; PAZ, G.F.; LEITE, R.C. Anticorpos contra o vírus da Língua Azul em bovinos leiteiros de Minas Gerais e associações com problemas reprodutivos. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia (Uruguaiana)**, v.10, p.42-51, 2003.

KOUMBATI, M.; MANGANA, O.; NOMIKOU, K.; MELLOR, P.S.; PAPADOPOULOS, O. Duration of bluetongue viraemia and serological responses in experimentally infected European breeds of sheep and goats. **Veterinary Microbiology**, v.64, p.277-285, 1999.

LAGER, I.A.; DUFFY, S.; MIQUET, J.; VAGNOZZI, A.; GORCHS, C.; DRAGHI, M.; CETRÁ, B.; SONI, C.; HAMBLIN, C.; MAAN, S.; SAMUEL, A.R.; MERTENS, P.P.C.; RONDEROS, M.; RAMIREZ, V. Incidence and isolation of bluetongue virus infection in cattle of the Santo Tomé Department, Corrientes Province, Argentina. **Veterinaria Italiana**, v.40, n.3, p.141-144, 2004.

LIBAL, M.C.; KIRKBRIDE, C.A. *Brucella ovis*-induced abortion in ewes. **JAVMA**, v.183, n.5, p.553-554, 1983.

LINKLATER, K.A.; SMITH, A.C. **Diseases and Disorders of the Sheep and Goat**. London: Mosby –Wolfe. 1993. p.125.

LIRA, N.S.C.; MEGID, J. Patogenia da brucelose ovina. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.2, p.280-289, 2009.

LOBATO, Z.I.P. Língua Azul: a doença nos bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.4, p.515-523, 1999.

MACLACHLAN, N.J. Bluetongue: pathogenesis and duration of viraemia. **Veterinaria Italiana**, v.40, p. 462-467, 2004.

MAGALHÃES NETO, A.; GIL-TURNES, C. Brucelose ovina no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.16, n.2/3, p.75-79, 1996.

MANTEROLA, L.; TEJERO-GARCÉS, A.; FICAPAL, A.; SHOPAYEVA, G.; BLASCO, J.M.; MARIN, C.M.; LÓPEZ-GOÑI, I. Evaluation of a PCR test for diagnosis of *Brucella ovis* infection in semen samples from rams. **Veterinary Microbiology**, v.92, p.65-72, 2003.

MARÍN, C.M.; JIMÉNEZ DE BAGUÉS, M.P.; BLASCO, J.M.; GAMAZO, C.; MORIYÓN, I.; DÍAZ, R. Comparison of three serological tests for *Brucella ovis*

infection of rams using different antigenic extracts. **The Veterinary Record**, v.125, p.504-508, 1989.

MARINHO, M.; MATHIAS, L.A. Pesquisa de anticorpos contra *Brucella ovis* em ovinos do estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.16, n.2/3, p.45-48, 1996.

MARTINEZ, P.M.; COSTA, J.N.; SOUZA, T.S.; COSTA NETO, A.O.; PINHEIRO, R.R. Sistemas de criação de ovinos e ocorrência de anticorpos contra o vírus da Maedi-Visna na Microrregião de Juazeiro – Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, n.2, p.342-353, 2010.

MARTINS, G.A. **Estatística Geral e Aplicada**. 3ed. São Paulo: Atlas, 2006. 428p.

MELLOR, P.S.; BOORMAN, J.; BAYLIS, M. Culicoides biting midges: their role as Arbovirus. **Annual Review Entomology**, v. 45, p. 307-340, 2000.

MELLOR, P.S.; WITTMANN, E.J. Bluetongue virus in the Mediterranean basin, 1998-2001. **The Veterinary Journal**, v.164, p. 20-37, 2002. doi: 10.1053/tvj.2002.0713

MELO, C.B.; OLIVEIRA, A.M.; CASTRO, R.S.; LOBATO, Z.I.P.; LEITE, R.C. Anticorpos precipitantes contra o vírus da língua azul em bovinos de Sergipe. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v.2, n.2, p.125-127, 1999.

MELO, C.B.; OLIVEIRA, A.M.; AZEVEDO, E.O.; LOBATO, Z.I.P.; LEITE, R.C. Anticorpos contra o vírus da língua azul em bovinos do sertão da Paraíba. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.1, p.19-20, 2000.

MOBINI, S.; HEATH, A.M.; PUGH, D.G. Teriogenologia de ovinos e caprinos. In: PUGH, D.G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca. 2005. p.145-208.

NAVARRE, C.B.; LOWDER, M.; PUGH, D.G. Enfermidades da boca e do esôfago. In: PUGH, D.G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005, p.72-73.

MOREIRA, J.N.; CORREIA, R.C.; ARAUJO, J.R.; SILVA, R.R.; OLIVEIRA, C.A.V. **Estudo do circuito de comercialização de carne de caprinos e ovinos no eixo Petrolina-PE/-Juazeiro-BA**. Petrolina: EMBRAPA- CPATSA, 1998. 38p.

NOZAKI, C.N.; MEGID, J.; LIMA, K.C.; SILVA JUNIOR, 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. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, n.1, p.1-5, 2004.

OIE. Organização Mundial de Saúde Animal. **Bluetongue**. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/maladies/fiches/A_A090.htm> Acesso em 07 jul. 2008.

PAOLICCHI, F.A.; CASARO, P.A.; GIMENO, E.J.; KORTEBANI, L.G.; MAZZOLLI, A.B. Antisperm response in rams experimentally infected with *Brucella ovis*. **Small Ruminant Research**, v.36, p.7-15, 2000.

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F. Prevalência da infecção pelo vírus da Artrite-Encefalite Caprina no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v.31, n.3, p.449-454, 2001a.

PINHEIRO, R. R.; ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A. M. G. **Métodos de Diagnóstico das Lentiviroses de Pequenos Ruminantes**. Circular Técnica 25. Sobral: EMBRAPA Caprinos, 2001b. 8p.

PINHEIRO, R. R.; ALVES, F. S. F.; ANDRIOLI, A. **Importância do Diagnóstico Precoce de Doenças em Pequenos Ruminantes**. Documentos 43. Sobral: EMBRAPA Caprinos, 2002.27p

PINHEIRO, R. R.; CHAGAS, A. C. S.; ANDRIOLI, A.; ALVES, F. S. F.; **Viroses de Pequenos Ruminantes**. Documentos 46. Sobral: EMBRAPA Caprinos, 2003.30p

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F.; ANDRIOLI, A. Perfil de propriedades no estado do Ceará relacionado à presença do lentivírus caprino. **Ciência Animal**, v.14, n.1, p.29-37, 2004.

PINHEIRO JUNIOR, J.W.; OLIVEIRA, A.A.F.; MOTA, R.A.; AGOTTANI, J.V.; JESUS, E.M.; ASSIS, S.T.; OLIVEIRA, C.Z. Ocorrência de ovinos sororeatores para *Brucella ovis* no estado de Alagoas, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.3, p.500-508, 2009.

PURSE, B.V.; MELLOR, P.S.; ROGERS, D.J.; SAMUEL, A.R.; MERTENS, P.P.C.; BAYLIS, M. Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. **Nature Reviews Microbiology**, v.3, p. 171-181, 2005.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. *Reoviridae*. In:_____ **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**. Porto Alegre: Artmed. 2005a. p. 358-363.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. Gênero *Brucella*. In:_____ **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**. Porto Alegre: Artmed. 2005b. p. 166-171.

QUISPE, R.Ch.; RIVERA, H.G.; ROSADIO, R.A. Cinética de la infección por *Brucella ovis* en carneros durante una época de empadre. **Revista de Investigación Veterinaria de Perú**, v.13, n.1, p.61-66, 2002.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Brucelose causada pela *Brucella ovis*. In:_____ **Clínica Veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 9ed. 2002. p.791-794.

RAMOS, A.A.; MIES FILHO, A.; SCHENCK, J.A.P.; VASCONCELLOS, L.D.; PRADO, O.T.G.; FERNANDES, J.C.T.; BLOBEL, H. Epididimite ovina. Levantamento clínico no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.1, p.211-213, 1966.

RIBEIRO, L.A.O. Risco de introdução de doenças exóticas pela importação de ovinos. **Bol. Lab. Reg. Diagn.**, v.13, p. 39-44, 1993.

RIZZO, H.; GREGORY, L.; PINHEIRO, E.S.; CARVALHO, A.F.; SANTANA, R.L.; SILVA, L.M.P. Incidência de *Brucella ovis* em ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos no estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, suplemento I, 2009.

ROBLES, C.A. Evaluación de una técnica de doble difusión em gel de agar para el diagnóstico de la infección por *Brucella ovis* em carneiros. **Veterinária Argentina**, v. 15, n.142, p.119-125, 1998.

ROBLES, C.A.; UZAL, F.A.; OLAECHEA, F.V.; LOW, C. Epidemiological observations in a Corriedale flock affected by *Brucella ovis*. **Veterinary Research Communications**, v.22, n.7, p. 435-443, 1998.

ROY, P.; BOYCE, M.; NOAD, R. Prospects for improved bluetongue vaccines. **Nature Reviews Microbiology**, v.7, n.2, p.120-128, 2009.

RUIZ-FONS, F.; REYES-GARCÍA, A.R.; ALCAIDE, V.; GORTÁZAR, C. Spatial and temporal evolution of bluetongue virus in wild ruminants, Spain. **Emerging Infectious Diseases**, v.14, n.6, p. 951-953, 2008.

SANTMAN-BERENDS, I.M.G.A.; VAN WUIJCKHUISE, L.; VELLEMA, P.; VAN RIJN, P.A. Vertical transmission of bluetongue virus serotype 8 virus in Dutch dairy herds in 2007. **Veterinary Microbiology**, v. 141, p. 31-35, 2010.
doi:10.1016/j.vetmic.2009.08.010

SAVINI, G.; MACLACHLAN, N.J.; SANCHEZ-VIZCAINO, J.M.; ZIENTARA, S. Vaccines against bluetongue in Europe. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v. 31, p.101-120, 2008. doi: 10.1016/j.cimid.2007.07.006

SCHÄFER, I.; VAZ, A.; RAMELLA, J.; COUTINHO, G. Prevalência de carneiros reagentes à prova de imunodifusão em gel para *Brucella ovis* no município de Lages-SC. **A Hora Veterinária**, v.17, n.99, p.60-61, 1997.

SCHWARTZ-CORNIL, I.; MERTENS, P.P.C.; CONTRERAS, V.; HEMATI, B.; PASCALE, F.; BRÉARD, E.; MELLOR, P.S.; MACLACHLAN, N.J.; ZIENTARA, S. Bluetongue virus: virology, pathogenesis and immunity. **Veterinary Research**, v.39, n.5, p.1-16, 2008. doi: 10.1051/vetres:2008023

SHRINGI, S.; SHRINGI, B.N. Comparative efficacy of standard AGID, CCIE and competitive ELISA for detecting bluetongue virus antibodies in indigenous breeds of sheep and goats in Rajasthan, India. **Journal of Veterinary Science**, v.6, n.1, p.77-79, 2005.

SILVA, J.B.A.; FEIJO, F.M.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; SILVA, J.S. Prevalência de brucelose ovina causada por *Brucella ovis* em rebanhos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Animal**, v.13, n.1, p.51-54, 2003.

SILVA, M.X. **Soroprevalência da Língua Azul em caprinos e sua associação com indicadores de tecnologia em propriedades do Ceará.** 2002. 83f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

SILVA, N.S.; BARROS, I.N.; DASSO, M.G.; ALMEIDA, M.G.A.R.; LABORDA, S.S.; ANUNCIACÃO, A.V.M.; MOREIRA, E.L.T.; LIMA-SILVA, A.E.; OLIVEIRA, E.M.D. Detecção de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos do estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.4, p.852-859, 2009.

SINGER, R.S.; MACLACHLAN, N.J.; CARPENTER, T.E. Maximal predicted duration of viraemia in bluetongue virus-infected cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.13, p.43-49, 2001.

SOUZA, R.L. Agricultura familiar e pluriatividade no semi-árido baiano. **Bahia Análises & Dados**, v.13, n.4, p. 921-930, 2004.

SOUZA, T.S.; COSTA, J.N.; MARTINEZ, P.M.; PINHEIRO, R.R. Estudo sorológico da Maedi-Visna pelo método de imunodifusão em gel de ágar em rebanhos ovinos de Juazeiro, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.4, p.276-282, 2007.

SOUZA, T.S.; COSTA, J.N.; MARTINEZ, P.M.; COSTA NETO, A.O.; PINHEIRO, R.R. Anticorpos contra o vírus da língua azul em rebanhos ovinos da Microrregião de Juazeiro, Bahia. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.3, p.419-427, 2010.

TABACHNICK, W.J. Culicoides variipennis and bluetongue virus epidemiology in the United States. **Annual Reviews of Entomology**, v.41, p.23-43, 1996.

TAKAMATSU H.; MELLOR P.S.; MERTENS P.P.; KIRKHAM P.A.; BURROUGHS J.N.; PARKHOUSE R.M. A possible overwintering mechanism for bluetongue virus in the absence of the insect vector. **Journal of General Virology**, v.84, p.227-235, 2003.

TOMICH, R.G.P.; PELLEGRIN, A.O.; CAMPOS, F.S.; LOBATO, Z.I.P; BARBOSA-STANCIOLI, E.F. **Epidemiologia do vírus da língua azul em rebanhos bovinos.** Documentos 85. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2006, 26p.

THIBIER, M. Identified and unidentifield challenges for reproductive biotechnologies regarding infections diseases in animal and public health, **Theriogenology**, v.56, n.9, p. 1465-1481, 2001.

THRUSFIELD, M.V. Inquéritos. In:___**Epidemiologia Veterinária.** 2ed. São Paulo: Roca. 2004. p.223-247

VELLEMA, P. Bluetongue in sheep: Question marks on bluetongue virus serotype 8 in Europe. **Small Ruminant Research**, v.76, 2008, p. 141-148, 2008. doi: 10.1016/j.smallrumres.2007.12.009

VENDITTI, L.L.R.; NOGUEIRA, A.H.C.; STEFANO, E.; GALLETI, N.T.C.; PITUCO, E.M. Ocorrência da língua azul em cordeiros das regiões de Sorocaba e

Araçatuba – SP, Brasil. In: 6ª FEIRA INTERNACIONAL DE CAPRINOS E OVINOS, 2009, São Paulo. **Anais...** São Paulo: 2009 (Resumo).

VIEIRA, L. S.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; SILVA, E. R.; COSTA, A. L.; CAVALCANTE, A. C. R.; Sanidade. In: ELOY, A. M. X; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. **Orientações Técnicas para a Produção de Caprinos e Ovinos em Regiões Tropicais**. Sobral: EMBRAPA Caprinos, 2001. 79p

WALKER, R.L. *Brucella*. In: HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2003. p.185-191.

WIKIPÉDIA. **Geografia da Bahia**. Disponível em:
<[http://http://pt.wikipedia.org/wiki/Geografia_da_Bahia](http://pt.wikipedia.org/wiki/Geografia_da_Bahia)> Acesso em: 23 abr. 2008.

WILSON, A.; DARPEL, K.; MELLOR, P.S. Where does bluetongue virus sleep in the winter? **PLOS Biology**, v.06, n.08, p.1612-1617, 2008.

WINWARD, L.D.; LEENDERTSEN, L.; SHEN, D.T. Microimmunodiffusion test for diagnosis of ovine progressive pneumonia. **American Journal of Veterinary Research**, v.40, n.4, p.564-566, 1979.