

OCORRÊNCIA DE OVINOS SOROPOSITIVOS PARA *BRUCELLA OVIS* NOS REBANHOS DO ESTADO DO CEARÁ¹

Helana Maria Feitosa Batista²

Alice Andrioli³

Raymundo Rizaldo Pinheiro³

Francisco Selmo Fernandes Alves³

Lauana Borges Santiago³

Introdução

O rebanho ovino brasileiro apresenta um total de 16.811.721 milhões de cabeças que segundo o movimento pecuário se encontra em franca expansão. O Nordeste apresenta o maior rebanho com 9.566.968 milhões de cabeças, o estado do Ceará é o segundo maior detentor destes animais com 2.071.098 milhões, das quais são destinadas a exploração de corte (IBGE, 2009).

O contingente expressivo de animais não acompanha o nível de tecnificação que ainda está restrito a poucos produtores. Segundo Guimarães *et al.* (2006), a aquisição de animais originários dos estados do Nordeste brasileiro é freqüente no estado de Minas Gerais, e a ausência de documentação sanitária na compra de ovinos predispõe a sério risco de introdução de agentes infecciosos relevantes, apesar da obrigatoriedade da notificação das doenças dos animais, listadas pela Organização Mundial de Saúde Animal (ADAGRI, 2009). Sem o registro da ocorrência desta doença, o objetivo principal da prevenção, do controle e da erradicação fica bastante vulnerável. A importância desta enfermidade não se restringe apenas ao fato de sua implicação na saúde pública, mas também como o seu diagnóstico pode representar uma barreira potencial para o comércio de animais e produtos (WHO, 1997).

O “Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos - PNSCO” através da instrução Normativa n. 87 da Secretaria de Defesa Agropecuária, de 10 de dezembro de 2004, aprovou o Regulamento Técnico do PNSCO, com o controle e erradicação das doenças de caprinos e ovinos, por meio de ações sanitárias e de vigilância epidemiológica executadas pelos serviços oficiais e médicos veterinários cadastrados. Dentre as estratégias de atuação estão o cadastro de estabelecimentos, controle de trânsito de animais, certificação de estabelecimentos, cadastramento de Médicos Veterinários do setor privado e credenciamento de laboratórios para realização de exames diagnósticos das doenças de controle oficial, entre elas *B. ovis* (PNSCO, 2005).

A Epididimite Ovina tem sido relatada como principal causa de problemas reprodutivos em ovinos em países da América Latina e do Norte, Europa, Oceania e outros países com importante

¹Pesquisa desenvolvida na EMBRAPA Caprinos e Ovinos

²Aluna do Mestrado em Zootecnia da UVA em convênio com a EMBRAPA Caprinos e Ovinos. Email: helana_veterinaria@hotmail.com

³Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Caprinos e Ovinos. Email: alice@cnpc.embrapa.br

produção ovina (WHO, 2006). São escassos os estudos sobre a epididimite em ovinos deslançados no Nordeste do Brasil. (Clementino *et al.*, 2007). Trabalhos recentes demonstram, ainda que em pequena intensidade, a ocorrência da doença em vários estados do país (Alves *et al.*, 2010; Marques, 2006; Pinheiro *et al.*, 2008; Lira & Megid, 2009; Rizzo *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2009). Isto mostra que a doença está difundida no país, no entanto, não há relatos sobre a magnitude das perdas econômicas relativas a esta doença (Clementino *et al.*, 2005).

De forma geral, inclusive no Brasil, são escassos os estudos da Brucelose Ovina. Esta enfermidade tem denotado uma grande importância devido ao aumento da criação de ovinos em todo mundo e o desconhecimento do agente causador da doença no rebanho (Lira & Megid, 2009).

No Brasil, a infecção de ovinos por *Brucella ovis* foi inicialmente descrita e diagnosticada clinicamente no Rio Grande do Sul por Ramos *et al.* (1966). Posteriormente Blobel *et al.* (1972) efetuaram o isolamento do agente no epidídimo dos ovinos.

São microrganismos em forma de cocobacilos, imóveis, Gram negativos e aeróbios. Qualquer das três espécies tem habilidade de causar a infecção nos seres humanos sendo a principal via de infecção a ingestão de leite cru e/ou derivados e queijos frescos provenientes de animais infectados (Alves *et al.*, 2006).

Em ovinos as alterações testiculares características da epididimite são usualmente unilaterais, evoluindo para atrofia testicular na fase crônica e baixa fertilidade. A transmissão ocorre por ingestão e/ou contato sexual com descargas genitais (Alves *et al.*, 2006). Como o sêmen é a principal via de excreção da *B. ovis* (Paolicchi *et al.*, 1993) e as mucosas vaginal e cérvico-uterina são importantes portas de entrada do agente (Plant *et al.*, 1986; Homse *et al.*, 1995), a transmissão da *B. ovis* do carneiro para a ovelha na cópula contribui para a manutenção da infecção. A localização da *B. ovis* no útero pode seguir-se de uma excreção vaginal da bactéria e constituir um risco de infecção para carneiros durante a cópula (Marco *et al.*, 1994).

Lira & Megid (2009) realizaram a infecção experimental em carneiros a qual revelou que a ocorrência de epididimite não é constante, portanto a denominação “epididimite ovina” pode não ser adequada. Já que podem existir lesões testiculares muito severas sem o comprometimento do epidídimo. Um dos animais apresentou reação positiva em repetidas provas sorológica, lesões histopatológicas severas no testículo e a ausência de lesão no epidídimo, com isolamento de *B. ovis* por cultivo. Silva *et al.* (2009) durante exame clínico realizados em carneiros não detectou alterações sugestivas de infecção por *B. ovis*.

O diagnóstico mais fidedigno da doença é firmado diante do isolamento do microrganismo em animais suspeitos. Entretanto possui sensibilidade limitada, alto custo, dificuldade do isolamento, o que dificulta a aplicação do referido exame em grande escala para campanhas de controle. Assim, os métodos indiretos baseados em testes sorológicos são amplamente utilizados em programas de controle e erradicação da doença (Ferreira *et al.*, 2006). O diagnóstico da infecção por *Brucella ovis* é realizado, predominantemente, através de testes sorológicos (Alton *et al.*, 1988; Marinho & Mathias, 1996).

Métodos de diagnóstico da Brucelose são baseados essencialmente em sorologia com o LPS de cepas lisas produzindo intensa resposta imunológica em vários hospedeiros (Cutler *et al.*, 2005). Em Nozaki *et al.* (2004), das amostras positivas na ID sem o 2-Mercaptoetanol (ID S/2-ME), 117 foram negativas e 7 suspeitas ao teste de ELISA (Nozaki *et al.*, 2004) A aplicação associada da ID S/2-ME ao ELISA deve ser incentivada para o diagnóstico da brucelose ovina por possibilitar resultados mais confiáveis. Desta forma a associação da ID S/2-ME ao ELISA apresentou melhores resultados, detectando 7 animais positivos e três suspeitos ao ELISA, contrariamente à ID com o 2-Mercaptoetanol que não apresentou concordância de resultados positivos comparativamente ao ELISA. Estes resultados são reforçados pela recomendação da OIE da utilização da associação da ID com ELISA para aumentar a sensibilidade do teste (Nozaki *et al.*, 2004).

A discrepância de resultados observados nas técnicas sorológicas, associadas à ausência de sintomatologia clínica nos animais, impossibilita a caracterização da enfermidade de forma eficiente e demonstra a necessidade de desenvolvimento de testes diagnósticos eficazes, que possibilitem o real diagnóstico da enfermidade. (Nozaki *et al.*, 2004).

No Brasil, a pouca disponibilidade de imunorreagentes no mercado nacional para diagnóstico de doenças de importância econômica na ovinocultura e de imunógenos espécie-específicos dificulta as práticas preventivas nos criatórios e no trânsito de ovinos (Marques, 2006).

Objetivos

Realizar levantamento sorológico em amostras provenientes de propriedades localizadas no estado do Piauí e, assim traçar o perfil epidemiológico da Brucelose Ovina no estado.

Metodologia

O trabalho foi realizados no estado do Piauí com a participação dos produtores de maneira voluntária, como resultado de divulgação do projeto junto aos órgãos de extensão e assistência técnica e às associações de produtores.

Amostras de soro sanguíneo foram obtidas de uma amostra representativa, para formação de um banco de soros, que será disponibilizado para estudos futuros, com vários objetivos como: ampliação do leque de enfermidades analisadas, estudos retrospectivos e comprovação de inexistência de determinadas infecções.

Na ocasião da visita do técnico à propriedade, foi entregue ao produtor, uma carta explicativa e de mobilização pela participação. A coleta de amostras de sangue foram realizadas por técnicos das instituições participantes. O sangue foi coletado através da venipuntura da jugular, usando tubos tipo *Vacutainer*[®]. Em seguida à coleta, os tubos foram inclinados para coagulação e centrifugados para dessorarem. Após a obtenção dos soros juntamente com o questionário e respectivo Formulário de Coleta de Amostras, os tubos/frascos devidamente identificados foram acondicionados, em gelo, em embalagem isotérmica (isopor) e encaminhados a Embrapa Caprinos em Sobral - Ceará, onde foram estocados a -20° C até a realização dos testes laboratoriais.

Para a realização da IDGA, utilizou-se Ágar Noble (Difco) a 1,1% em tampão borato 0,1 M pH 8,6, perfurador hexagonal com sete orifícios (um central e seis periféricos) medindo 4 mm de diâmetro, com distância entre orifícios de 3mm e com capacidade para 25 μ L de soro/antígeno por orifício. Os orifícios 2, 4 e 6 foram preenchidos com soro controle; os orifícios 1, 3 e 5 com os soros testes e orifício central, com o antígeno. O antígeno utilizado foi produzido pelo Instituto de Pesquisas do Paraná – TECPAR e composto por extrato solúvel obtido a partir de cultivo fresco de *B. ovis*, amostra REO 198. Sobre uma superfície nivelada, foram distribuídos 4,6 mL de agarose por lâmina de vidro (25 x 75 mm) desengordurada previamente em solução álcool-éter 50%. Após ocorrência de gelificação, as lâminas foram acondicionadas em câmara umedecida por 30 minutos a 4°C para estabilização iônica. Foram perfuradas 2 rosetas por lâmina, e a retirada dos orifícios foi realizada com auxílio de uma agulha fina. Após a distribuição dos reagentes, as lâminas foram colocadas em câmara úmida à temperatura de 25° e a leitura realizada após 48h de incubação, em transluminador UV, sobre fundo escuro. Para a leitura, primeiramente foram observadas as linhas do soro controle positivo, e em seguida as linhas dos soros testes, verificando a ocorrência de linhas de precipitação com identidade com àquelas do soro controle.

Resultados e discussões

Foram analisadas amostras de 32 propriedades, com 384 amostras testadas. Em cada propriedade foram examinados 12 animais, com todos os machos testados e completando a amostra com as fêmeas. Do total de amostras testadas 30 delas, ou seja 7,81%, foram positivas e apresentou 41 amostras suspeitas.

No estado do Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas e Pernambuco foram descritos 34%, 5,57%, 3,1% e 17,5% de soroprevalência, respectivamente, evidenciando a ocorrência da enfermidade (Silva *et al.*, 2003; Clementino *et al.*, 2007; Pinheiro Júnior *et al.*, 2009; Pinheiro Júnior *et al.*, 2008). Souza (2011) observou em 694 amostras de 58 rebanhos, com cinco animais positivos (8,62%), proporção pequena que pode está realcionada com características inerentes as propriedades da microregião de Juazeiro, na Bahia, como o baixo nível de tecnificação, fato comum a outros estados do nordeste.

Considerações finais

A pesquisa se encontra em andamento. Os animais suspeitos deverão ser resubmetidos ao teste de IDGA e rebanhos dos estados do Piauí e Rio Grande do Norte, serão objetos de estudo. Com os resultados observados já se sabe da ocorrência da Brucelose Ovina no estado do Ceará, e estes serão relacionados com características das propriedades e dados inerentes ao próprio animal. Estes resultados fornecerão um perfil epidemiológico da doença, ferramenta importante para a elaboração de estratégias de controle visando a erradicação em função do grande impacto que esta enfermidade pode causar na cadeia produtiva da ovinocultura.

Referências bibliográficas

AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DO CEARÁ – ADAGRI Lei nº 14.446, DE 01.09.09 (D.O. DE 02.09.09) **Dispõe sobre a obrigatoriedade da notificação, prevenção, controle e erradicação das doenças dos animais dá outras providências.** Disponível em: < <http://www.al.ce.gov.br/>> Acesso em: 20 abr. 2010

ALTON, G.G.; JONES, L.M.; ANGUS, R.D.; VERGER, J.M. **Techniques for the brucellosis laboratory.** Paris: INRA, p. 190, 1988.

ALVES, F. S. F.; CHAPAVAL, L., PINHEIRO, R. R. **Enfermidades e microrganismos passíveis de transmissão pela carne, leite e derivados de caprinos e ovinos.** Sobral: Embrapa Caprinos, 2006. 29 p. (Documentos / Embrapa Caprinos, nº 59).

ALVES, C. J.; FIGUEREDO, S. M.; AZEVEDO, S. S.; CLEMENTINO, I. J.; KEID, L. B.; VASCONCELOS, 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 **Braz. J. Microbiol.** v.41, p.365-367, 2010.

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 Veterinária Brasileira**, v.7, p.1-4, 1972.

CLEMENTINO, I. J. **Brucelose por *Brucella ovis* em ovinos deslanados do semi-árido da Paraíba. Inquérito soroepidemiológico e fatores de risco associados à infecção.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária de Pequenos Ruminantes da Universidade Federal de Campina Grande, para obtenção do título de Mestre, 2005.

CLEMENTINO, A. J.; LVES, 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 **Pesq. Vet. Bras.** v.27, n.4, p. 137-143, Rio de Janeiro Apr. 2007.

CUTLER, S.J.; WHATMORE, A.M.; COMMANDER, N.J A REVIEW Brucellosis – new aspects of an old disease. **Journal of Applied Microbiology** v. 98, p.1270–1281, 2005.

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

GUIMARÃES, A. S.; GOUVEIA, A. M. G. **Caracterização da caprinovinocultura em Minas Gerais. 2006.** 98f. Dissertação (Mestrado Medicina Veterinária). Escola de Veterinária-UFMG. Belo Horizonte.

HOMSE, A. C.; CASARO, A. P.; CAMPERO, C. M. Infertilidad en ovejas por *Brucella ovis*. **Vet. Argent.** v.12, p. 243-9, 1995.

INSTITUTO BASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA – IBGE Pesquisa Pecuaria (1997-2009). Disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=73&z=t&o=24&i=P>
Acesso em: 12 de abril de 2011

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

MARCO, J.; GONZALEZ, L.; CUERVO, L.A.; HEREDIA, F.B.; BARBERÁN, M.; MARÕN, C.; BLASCO, J.M. *Brucella ovis* infection in two flocks of sheep. **Veterinary Record**, v.13, p.254-256, 1994.

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.

MARQUES, A. P. R. **Caracterização soroepidemiológica da infecção por vírus Maedi-Visna e *Brucella ovis* em ovinos no estado de Minas Gerais**. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária. Belo Horizonte UFMG – Escola de Veterinária, 2006.

NOZAKI, C. N.; MEGID, J.; LIMA, K. C.; SILVA JÚNIOR, F.F.; VELOSO, C.S. Comparação das técnicas de Imunodifusão em gel de Ágar e Elisa no diagnóstico de Brucelose ovina em cabanhas da região centro-oeste de São Paulo **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.71, n.1, p.1-5, jan./mar., 2004. Acesso em 12 de agosto de 2011.

PAOLICCHI, F.A.; TERZOLO, H.R.; CAMPERO, C.M. Isolation *Brucella suis* from the semen of a ram. **Veterinary Record**, v.132, p.67, 1993.

PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; SOUZA, M. M. A.; GUERRA, N. R.; 3 ;SANTANA, V. L. de A.; MOTA, R. A. Freqüência de aglutininas anti-*Brucella abortus* em caprinos e ovinos do sertão do estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1096-1101, out./dez. 2008.

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.

PLANT, J. W.; EAMENS, G. J.; SEAMAN, J. T. Serological, bacteriological and pathological changes in rams following different routes of exposures to *Brucella ovis*. **Aust. Vet. J.**, v.63, n.12, p.409-412, 1986.

PROGRAMA NACIONAL DE SANIDADE DE CAPRINOS E OVINOS - **PROGRAMAS da Área Animal MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2005 Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso: 23 de abr de 2010.

SILVA, J. B. A.; TEIXEIRA, F. M. S.; SILVA, J. S. Prevalência de brucelosa ovina causada por *Brucella ovis* em rebanhos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil **Cienc. Anim** v. 13, p.51-4, 2003.

SILVA, N. dos S.; BARROS, I. N.; DASSO, M. G.; ALMEIDA, M. das G. A. R.; LABORDA, S. da S.; ANUNCIAÇÃO, A. V. M.; MOREIRA, E. L. T.; LIMA-SILVA, A. E.; OLIVEIRA, E. M.

de D. Detecção de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos do estado da Bahia **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.10, n.4, p.852-859 out/dez, 2009.

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.

RAMOS, A. A.; MIES FILHOS, A.; SCHENCK, J. A. P.; VASCONCELLOS, L. D.; PRADO, O. T. G.; FERNANDES, J. C. T.; BLOBEL, H. Epididimite ovina, 27 levantamento clínico no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.1, p.211-213, 1966.

RIZZO, H.; GREGORY, L.; SCARCELLI, P.; DE 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 1, 2009 – Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH – WHO **The Development of New/Improved Brucellosis Vaccines** Report of WHO Meeting with the participation of the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and the Office International des Epizooties (OIE) Geneva, Switzerland 11-12, p.4, December 1997.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH – WHO Autor principal: CORBEL, M. J. **Brucellosis in humans and animals**. Switzerland, p.19-28, 2006.