

# PREVALÊNCIA DA BRUCELOSE BOVINA EM REBANHOS LEITEIROS DA MICRORREGIÃO DE BATALHA - AL - BRASIL

Annelise Castanha Barreto TENÓRIO<sup>1</sup>, Francisco Feliciano da SILVA<sup>2\*</sup>,  
Taciana Rabelo Ramalho RAMOS<sup>3</sup>, Kleber Barreto NUNES<sup>4</sup>

**RESUMO:** Com o objetivo de verificar a prevalência de anticorpos para *Brucella* sp em bovinos leiteiros da Microrregião de Batalha, Estado de Alagoas, foram analisadas 700 amostras séricas de fêmeas através dos testes de Soroaglutinação Rápida em Placa (SAR), do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e da associação da Soroaglutinação Lenta em Tubos (SAL) e do 2-Mercaptoetanol (2-ME) para o diagnóstico da brucelose. Os resultados mostraram para a SAR 4,14% de animais positivos e 7,86% de suspeitos; para o AAT 8,57% de positivos, e para a SAL + 2-ME 7,15% de positivos e 1,29% de inconclusivos. Conclui-se assim, que a prevalência da brucelose bovina, na microrregião estudada (4,14%), é semelhante à do Estado de Alagoas (4,25%), e elevada quanto à prevalência nacional (2,75%), no Teste de Soroaglutinação Rápida.

Termos para indexação: bovino, brucelose, diagnóstico sorológico.

## PREVALENCE OF BOVINE BRUCELLOSIS IN DAIRY CATTLE OF THE BATALHA REGION – AL – BRAZIL

**ABSTRACT:** With the purpose of verifying the prevalence of *Brucella* sp antibodies in dairy cattle from the region of Batalha, state of Alagoas, a total of 700 samples of female serum were analyzed, using Plate Agglutination Test (PAT), Acidified Tamponed Antigen Test (ATA) and of the association of Tube Agglutination Test (TAT) and 2 - Mercaptoethanol (2-ME) for diagnosis of brucellosis. The results showed 4.14% of positive animals and 7.86% suspect in PAT; 8.57% positive for ATA; and TAT with + 2-ME 7.15% of positive and 1.29% of inconclusive animals. It can be concluded that the prevalence of the bovine brucellosis in the studied region (4.14%), is similar to the Alagoas State (4.25%) and elevated regarding the national prevalence (2.75%), using the Plate Agglutination Test.

Index terms: bovine, brucellosis, serum diagnosis.

### INTRODUÇÃO

A brucelose bovina é uma zoonose de distribuição mundial. Somente a Noruega, Suécia, Finlândia, Dinamarca, Islândia, Suíça, Repúblicas Checa e Eslováquia, Romênia, Reino Unido, Japão, Luxemburgo, Chipre, Bulgária e as Ilhas Virgens estão livres da brucelose (PEREIRA, 2001). Alguns países da América Latina vêm desen-

volvendo programas de erradicação, como o México, onde ocorreram 4.300 casos humanos em 1983; na Colômbia, vem sendo desenvolvido há mais de 20 anos, reduzindo a ocorrência da doença para cerca de 5%; e na Argentina, que possui um programa de erradicação, o qual vem sendo modificado acompanhando as novas técnicas sorológicas (MOLNÁR et al., 2000).

A brucelose é causada por uma bac-

<sup>1</sup> Médica Veterinária . Profª. Assistente – Curso de Medicina Veterinária – CESMAC – Maceió – AL.

<sup>2</sup> Médico Veterinário. Prof. Adjunto – Dpto de Medicina Veterinária - Universidade Federal Rural de Pernambuco Rua D. Manoel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos. 52171-900 – Recife-PE. E-mail: [rfeliciano@bol.com.br](mailto:rfeliciano@bol.com.br) \*Autor para correspondência.

<sup>3</sup> Médica Veterinária. Profª. Assistente – Curso de Medicina Veterinária – UNITINS – TO.

<sup>4</sup> Médico Veterinário – Secretaria de Agricultura – AL.

téria do gênero *Brucella* sp, bastante resistente quando em ambiente úmido e ao abrigo da luz solar direta e pH neutro, sobrevivendo, nesta situação, por longos períodos. Pode sobreviver até quatro meses nas instalações, cinco meses nos alimentos e no esterco, sete meses no solo e dois anos na água (GRASSO e CARDOSO, 1998).

Sendo uma doença de evolução crônica, os países em vias de desenvolvimento são os mais afetados, devido às condições adotadas para o manejo dos animais e seus produtos (LUNA-MARTÍNEZ et al., 1992; FERRAZ, 1999).

Nos bovinos a doença é quase sempre causada pela *Brucella abortus*, entretanto a *Brucella suis* e a *Brucella melitensis* são ocasionalmente incriminadas (HIPÓLITO et al. 1965; CARTER, 1988; FERRAZ, 1999).

A localização intracitoplasmática da *Brucella* sp contribui para o caráter crônico da doença. A sobrevivência no interior dos macrófagos permite a esta bactéria escapar de mecanismos extracelulares de defesa do hospedeiro, como complemento e anticorpos (FERRAZ, 1999).

A tendência atual de se focar o problema da brucelose bovina, em termos de diagnóstico de rebanho, com a utilização de estudo epidemiológico adequado a cada situação, poderá contribuir para reduzir o tempo necessário para o controle e erradicação da doença, especialmente nos chamados rebanhos-problema (VIANA et al., 1981).

Devido às limitações dos procedimentos laboratoriais que se apóiam no cultivo de microrganismos, os métodos sorológicos têm sido os mais utilizados para o diagnóstico da brucelose (RIBEIRO et al., 1997; MEGID et al., 1999), e se constituem em importante recurso de diagnóstico nas campanhas de controle da brucelose bovina (MATHIAS e MACMILLAN, 1995).

Objetivou-se com este trabalho determinar a prevalência da brucelose bovina nos rebanhos da Microrregião de Batalha – Alagoas, e fornecer subsídios para futuros

programas de erradicação desta zoonose, nesse Estado.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 700 amostras séricas de matrizes bovinas, mestiças Holandês-Zebu, provenientes de 58 propriedades dos cinco municípios da Microrregião de Batalha – Alagoas (Batalha, Jacaré dos Homens, Jaramataia, Major Isidoro, Mineirópolis), no período compreendido entre os meses de outubro de 2000 e abril 2001.

Antes da colheita de sangue, cada animal era devidamente identificado, observando-se a ocorrência ou não de vacinação contra a brucelose, bem como o estágio de proximidade do parto (30 dias antes até 30 dias após). Para uma melhor obtenção do soro, todas as amostras foram centrifugadas durante 10 minutos.

De acordo com Agottani e Gonçalves (1994), foram realizados os testes de Soroaglutinação Rápida em Placa (SAR) e do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT). Os resultados foram interpretados de acordo com Brasil (1976), enquanto que para o AAT utilizou-se o recomendado por Brasil (2001). Os soros de animais com reação positiva para um ou para ambos os testes, ou suspeitos na SAR, eram acondicionados em tubos de plástico estéreis, para posterior realização das provas de Soroaglutinação Lenta em Tubos (SAL), conforme preconizam Alton et al. (1976), e do 2 - Mercaptoetanol (2-ME), segundo a técnica descrita por Agottani e Gonçalves (1994), e ambos os resultados interpretados de acordo com Brasil (2001).

Para determinar o tamanho da amostra, admitindo-se um erro de amostragem de 10% e 95% de confiança, foi realizado um projeto piloto, tendo sido encontrada uma prevalência de 4,34%, a qual indicou um número total de amostras de 623 (ASTUDILLO, 1979; SILVA, 1991).

Para a seleção das propriedades foi utilizada a Tábua de Números Aleatórios (TNA), sobre as listagens obtidas nas indústrias de leite e na Secretaria de Agricul-

tura do Estado de Alagoas. Em cada propriedade foram obtidas amostras de 20 % das matrizes, em produção ou não, e que já tivessem parido pelo menos uma vez, de acordo com os resultados de levantamentos obtidos por Silva (1991) e Ramos et al. (2000) em regiões circunvizinhas do Estado de Pernambuco.

Paralelamente à execução da pesquisa, foi aplicado um questionário investigativo em ficha própria, sobre a constituição dos rebanhos bovinos da região, práticas de manejo, destino e comercialização da produção, com o intuito de melhor se conhecer a população bovina estudada e verificar a possível inter-relação com o aparecimento das doenças.

Na análise estatística, foram calculadas as freqüências de animais reagentes para

*Brucella* sp e os resultados analisados através do Contraste de Mc Nemar para proporções correlacionadas (REIS, 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos das 700 amostras provenientes de matrizes bovinas, analisadas através dos testes de Soroaglutinação Rápida em Placa (SAR), do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e da Associação dos Testes de Soroaglutinação Lenta e do 2- Mercaptoetanol (SAL + 2-ME), se encontram na Tabela 1, onde se observa que a microrregião de Batalha – AL apresentou uma prevalência de 4,14% de animais positivos para *Brucella* sp na prova de SAR, 8,57% na AAT e 7,15% na SAL + 2-ME .

Tabela 1 – Freqüência absoluta (f) e freqüência relativa (%) dos testes de Soroaglutinação Rápida em Placa (SAR), Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e da Associação dos Testes de Soroaglutinação Lenta e do 2 - Mercaptoetanol (SAL + 2-ME) nas 700 amostras analisadas de matrizes bovinas da Microrregião de Batalha – Alagoas – Brasil, em 2001

RESULTADOS	SAR		AAT		SAL + 2-ME	
	f	%	F	%	f	%
Negativo	616	88,00	640	91,43	640 <sup>1</sup>	91,56
Suspeito / Inconclusivo	55	7,86	-	-	09	1,29
Positivo (Prevalência)	29	4,14	60	8,57	50 <sup>2</sup>	7,15
TOTAL	700	100,00	700	100,00	699	100,00

<sup>1</sup> 32 amostras foram testadas, pois apresentaram reação suspeita ou positiva, na SAR e/ou ATA.

<sup>2</sup> Uma amostra insuficiente para realização dos testes.

Ressalta-se que das 700 amostras submetidas às provas de SAR e AAT, 92 apresentaram reação a uma ou a ambas as provas. Das 92 amostras, 91 (uma amostra não foi suficiente) foram testadas na SAL + 2-ME, onde 50 amostras foram positivas, 9 inconclusivas e 32 negativas (Tabela 3).

A prevalência de 4,14% encontrada no presente trabalho, através da prova SAR é condizente com a que é relatada para o Estado de Alagoas (4,25%); para a prova de AAT, não há relato para este Estado, observando-se em Pernambuco 4,51% de animais positivos (Brasil, 1996), valor este

bem abaixo do encontrado nesta pesquisa que foi de 8,57%, podendo este fato ser atribuído à maior sensibilidade da prova.

O percentual de 7,15% de animais positivos observados na associação de SAL + 2-ME é bem acima do encontrado na SAR, que foi de 4,14%, e abaixo do AAT, 8,57%. A opinião de Grasso e Cardoso (1998) é de que a prova de Soroaglutinação Lenta em Tubos é mais sensível e específica que a Soroaglutinação Rápida em Placa, mesmo tendo como tipo de anticorpo predominante a IgM. De acordo com Casas-Olascoaga (1976), a SAR tem o in-

conveniente de ser mais passível de apresentar aglutinações inespecíficas do que a SAL. Os testes do AAT e do 2-ME são úteis na detecção dos casos crônicos de brucelose. Ambas as provas foram modificadas para aumentar sua especificidade, como no caso da AAT (acidificando a suspensão antigênica), ou como a 2-ME (tratando o soro com agente redutor), a partir da redução da atividade da IgM. Contudo, o teste do AAT é qualitativo, ideal para triagem do rebanho e como suplementar no diagnóstico da brucelose (ROXO, 1993; GRASSO e CARDOSO, 1998).

Na Tabela 2, quando foram compara-

dos os resultados para SAR e AAT observou-se que 24 animais (43,64%) dos 55 soro-reagentes como suspeitos na primeira prova apresentaram reação positiva na prova do AAT; e oito (1,30%), em relação às 616 amostras negativas na prova de SAR. Este fato pode estar relacionado à capacidade da prova do AAT detectar a infecção mais cedo que o teste de SAR (DAVIES, 1971 apud MATHIAS e PINTO, 1983), já que a AAT necessita de uma menor quantidade de anticorpos IgG1 (500ng) que nas provas de soro-aglutinação, para promover uma reação positiva (NIELSEN et al., 1992, apud MOLNÁR et al., 1997).

Tabela 2 – Resultados dos Testes de Soroaglutinação Rápida em Placa e do Antígeno Acidificado Tamponado para brucelose nas 700 amostras analisadas de matrizes bovinas da Microrregião de Batalha – Alagoas – Brasil, em 2001

		SAR				
RSAS		□	S□	□	□	□
AA□	□	□		□	□	□
	□	□		□	□	□
	A□	□	□	□□	□	□ □

Quando se analisam os resultados obtidos das 91 amostras testadas nas quatro provas utilizadas (Tabela 3), nota-se que dos 55 animais suspeitos na prova de SAR, 19 (34,54%), foram positivos na associação dos testes de SAL + 2-ME, nove (16,36%) ainda apresentaram resultados inconclusivos e 27 (49,09%) tornaram-se negativos. Dos 60 animais com

reação positiva ao AAT, 50 (83,33%) apresentaram reação positiva à associação da SAL + 2-ME, dois (3,33%) reação inconclusiva e sete (11,67%) mostraram-se negativos. Isto pode ser devido às diferentes classes de imunoglobulinas que essas provas detectam, bem como à sensibilidade e à especificidade que cada prova apresenta.

Tabela 3 – Resultados dos testes de Soroaglutinação Rápida em Placa (SAR), Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e da Associação dos Testes de Soroaglutinação Lenta + 2 - Mercaptoetanol (SAL + 2-ME) nas 91 amostras analisadas de matrizes bovinas da Microrregião de Batalha – Alagoas – Brasil, em 2001

SA□□□	SAR					AA□		
	□	S□	□	□	□ □ □	□ □	□	□ □
□	□	□	□□	□	□ □	□ □	□	□ □
□□□□ □	□	□	□	□	□	□	□	
□	□	□	□	□	□	□	□	
A□	□	□	□□	□	□	□	□	□

<sup>1</sup> Uma amostra insuficiente para realização dos testes.

Esta diferença pode ser obtida através do conhecimento da formação das imunoglobulinas (Ig) e dos tipos e isotipos que cada prova sorológica demonstra. A prova de SAR é capaz de detectar IgM e IgG2, e a AAT, IgG1 e às vezes IgM, como asseveraram Levieux et al. apud Casas-Alascoaga (1976) e Agottani e Gonçalves (1994). As IgG2 aparecem mais tardiamente que a IgG<sub>1</sub>, e alcançam níveis menores do que a IgG1. Este é um dos motivos pelo qual se utiliza o isotipo IgG1 em provas sorológicas (MOLNÁR et al., 1997).

O teste de SAR pode ser negativo nas infecções crônicas, visto que, em certos casos, somente IgG1 estão presentes e não são detectadas por este teste (MORGAN, 1967 apud MOURA-SOBRINHO 1999).

Dados obtidos a partir de um questionário investigativo revelaram que em 94,83% das 58 propriedades visitadas, se pratica a ordenha manual, sem a higienização adequada do úbere. Em 28 destas propriedades (48,27%), a produção de leite é destinada a pequenos laticínios, cujo principal produto é o queijo de coalho, que é fabricado sem tratamento térmico, trazendo sérios riscos para a saúde pública, com a possível transmissão de várias doenças diretamente para o homem (TENÓRIO, 2001). Foi também observado que 46,55% dos proprietários não realizam exames para o diagnóstico de brucelose na compra dos animais, 39,66% realizam os mesmos, 5,17% não o fazem porque possuem rebanhos fechados, e 8,62% não estavam presentes para informar. Nenhum dos proprietários, ao adquirir novos animais, faz quarentena antes de introduzi-los no rebanho.

Na região estudada foram observadas deficiências de manejo, baixo nível cultural e tecnológico, falta de apoio técnico qualificado à grande maioria dos criadores, como já haviam observado Alves et al. (1991).

## CONCLUSÕES

Os fatores sócio-culturais e econômi-

cos observados estão intrinsecamente envolvidos na epidemiologia da brucelose na Microrregião de Batalha – AL. Os passos fundamentais para o controle e erradicação da doença nesta Microrregião devem ser baseados na observância das condições exigidas no regulamento técnico da Instrução Normativa nº 2 do MARA, apoio técnico-financeiro para o cumprimento do mesmo, na conscientização do homem, através da educação em saúde dos trabalhadores expostos, criadores e população em geral, concomitantemente a políticas de financiamento da promoção social.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOTTANI, J. V. B.; GONÇALVES, M. L. L. Brucelose. In: Curitiba. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná. Tuberculose bovina, brucelose e portaria ministerial 23/76. Curitiba, 1994. p. 25-51.

ALVES, C. J.; ALBUQUERQUE, A. X.; LEITE, E. A. et al. Situação Soro-epidemiológica da Brucelose Bovina na Depressão de Patos – PB, no período de junho de 1991 a julho de 1992. Arquivo Escola de Medicina Veterinária – UFBA, Salvador, v.16, n.1, p.1-7, 1991.

ALTON, G. G; JONES, L. M; PIETZ, D. E. Las tecnicas de laboratorios en la brucelosis, 2 ed. Genebra: Organización Mundial de la Salud, 1976, cap.2, p.92-112: Metodos serologicos.

ASTUDILLO, V. M. Encuestas por muestreo para estudios epidemiológicos en poblaciones animales. Centro Paramericano de Fiebre Aftosa. Serie de Manuales Didacticos, v. 12, 60 p. 1979.

BRASIL. Portaria nº 23, de 20 de janeiro de 1976. Normas para a profilaxia da brucelose animal. Diário Oficial da União, Brasília, n.32, p. IV-20 – IV-26, 16 fev. 1976. Seção I, pt. I.

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária Departamento de Defesa Animal. Brucelose Bovina. Boletim de Defesa Sanitária Animal, Brasília, v. 29, n.1/4, p. 41-47, 1996.

BRASIL. Instrução Normativa nº 2, de 10 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Bru-

- celose e Tuberculose. Diário Oficial da União, Brasília, n. 11, p. 11-17, 16 jan. 2001. Seção I.
- CARTER, 1988. Fundamentos de Bacteriologia e Micologia Veterinária, 1ª ed. São Paulo: Roca, 1988, p. 180-185.
- CASAS-OLASCOAGA, R. Serologic Diagnosis of Brucellosis. In.: MEJIA, R. Zoonosis, Buenos Aires: Organización Panamericana de la Salud, 1976. p.141-165.
- FERRAZ, I. B. F. Novos métodos de controle e diagnóstico da brucelose bovina. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 23, n. 4, p. 504-508, 1999.
- GRASSO, L.M.P.S.; CARDOSO, M.V. Brucelose Bovina. Biológico, São Paulo, v. 60, n.1, p. 71-79, 1998.
- HIPÓLITO, O.; FREITAS, M. G.; FIGUEIREDO, J. B. Doenças infecto-contagiosas dos animais domésticos. 4ª Ed. São Paulo: Edições Melhoramentos, 1965, p. 67-96.
- LUNA-MARTÍNEZ, J. E; ARANGO, C. J. J; LÓPEZ-MERINO, A. Estudio de la brucelosis en Hatos lecheros en una zona conurbada de la Ciudad de México. Veterinaria México, México, v. 23, n. 2, p.111-116, 1992.
- MATHIAS, L. A; MACMILLAN, A. P. Comparação de Conjugados no teste imuno-enzimático Competitivo para o Diagnóstico Sorológico da Brucelose Bovina. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v.15, n. 4, p.101-105, 1995.
- MATHIAS. L.A.; PINTO,A.A. Comparative study among complement fixation, serum agglutination and rose Bengal plate tests in the serodiagnosis of bovine brucellosis. International Journal of Zoonosis, n. 10, p. -6, 1983.
- MEGID, J; RIBEIRO, M.G; AGOTTANI, J. V. B. et al. Imuno-difusão em gel de agar com polissacarídeos de membrana de Brucella abortus 1119-3, no diagnóstico da brucelose bovina. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 51, p. 433-437, 1999.
- MOLNÁR, L; MOLNÁR, E; TURY, E. et al. Concepções modernas para o diagnóstico da brucelose. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, Rio de Janeiro, v.19, n. 4, p.157-162, 1997.
- MOLNÁR, E; MOLNÁR, L; DIAS, H.L.T. et al. Ocorrência da Brucelose Bovina no Estado do Pará confirmada por Métodos Sorológicos. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, Rio de Janeiro, v. 22, n. 3, p.117-121, 2000.
- MOURA-SOBRINHO, P. A. Prevalência de caprinos soro-reagentes para Brucella abortus no estado do Ceará. 1999. 45 p. Tese (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 1999.
- PEREIRA, J. C. Brucelose. Capturado em 30 abr. 2001. On line Disponível na Internet <http://www.geocities.com/Heartland/acres/7530/brucelose.htm>
- RAMOS, T. R. R; SILVA, F. F; MOTA. R. A. et al. Levantamento de Brucelose Bovina pela Prova do Anel (Ring Test) no Leite, no município de Bom Conselho – PE. Revista Brasileira de Ciência Veterinária, Niterói, v. 7, n. 1, p. 208, 2000.
- REIS, J. C. Estatística aplicada à pesquisa em ciência veterinária. 1ª Ed., Olinda: Lucy Artes Gráficas, 2003, 651 p.
- RIBEIRO, M. G; SPAGO, N; FAVA, N. et al. Perfil sorológico anti-Brucella abortus em bezerras vacinadas com amostra B<sub>19</sub>. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 49, n. 2, p.137-150, 1997.
- ROXO, E. Brucelose: como evitar. Vet. News, Rio de Janeiro, n. 4, p. 3, 1993.
- SILVA, F.F. Prevalência da Infecção pelo Herpesvirus Bovino 1 no Agreste Meridional de Pernambuco. Dissertação de Mestrado, 60 p. Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária – UFRPE, 1991.
- TENÓRIO, A. C. B. Prevalência da Brucelose Bovina em Rebanhos Leiteiros da Microrregião de Batalha – AL. Dissertação de Mestrado, 42 p. Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária – UFRPE, 2001.
- VIANA, F. C; SILVA, J. A; MOREIRA, E. C. et al. Avaliação de Testes Sorológicos no Diagnóstico de Brucelose Bovina Crônica. Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, v. 33, n. 2, p. 277-285, 1981.