

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

AUDREY MIKA HAYASHI

BRUCELOSE BOVINA: REVISÃO DE LITERATURA E RELATO DE
CASO

SÃO PAULO

2020

AUDREY MIKA HAYASHI

BRUCELOSE BOVINA: REVISÃO DE LITERATURA E RELATO DE
CASO

Trabalho de conclusão do programa de Residência em
Clínica e Cirurgia de Grandes Animais – Modalidade
Ruminantes da Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-
USP)

PRECEPTORA: PROF. DRA. VIVIANI GOMES

SÃO PAULO

2020

AUDREY MIKA HAYASHI

BRUCELOSE BOVINA: REVISÃO DE LITERATURA E RELATO DE
CASO

Trabalho de conclusão do programa de Residência em
Clínica e Cirurgia de Grandes Animais – Modalidade
Ruminantes da Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-
USP)

PRECEPTORA: PROF. DRA. VIVIANI GOMES

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Viviani Gomes.
Universidade de São Paulo – FMVZ – USP

Prof. Dr Fabio Celidônio Pogliani
Universidade de São Paulo – FMVZ – USP

Méd. Veterinária Msc. Camila Cecilia Martin.
Sup: Méd. Veterinária Msc. Karen Nascimento Silva
Universidade de São Paulo – FMVZ – USP

AGRADECIMENTOS

Me graduei aqui na FMVZ em 2016. Foi um fim de um ciclo, porém meu desejo era fazer residência, então não foi um completo adeus. Quando não passei nas provas de residência no primeiro ano, cheguei a me questionar sobre muitas coisas, sobre mudar de área e até de carreira. Quem me conhece sabe que sempre me questiono de muitas coisas. No ano de 2017 dediquei-me a estudar para novas provas de residência e fiz estágio na CBPR por dois meses. Nesses dois meses pude ter um gostinho de como seria se eu fosse residente. Não nego que já havia tido crises de estresse nesses dois meses, desejando que algumas coisas mudassem. Quando passei na residência já sabia de muitas coisas que me esperariam mas vim com a ideia de, além de aprender, que é o objetivo da residência, me dedicar ao hospital e tentar melhorar alguns aspectos. Não sei se consegui ou se deixei pior do que quando entrei, mas fiz o meu melhor. Nesses dois anos aprendi muito, mudei muito, percebi que gosto de cuidar de assuntos administrativos e tentei passar minimamente meus conhecimentos técnicos e de vida para os estagiários que por lá passaram. Chorei muito, ri, fiz amigos, passei nervoso e vivi momentos de satisfação ao liberar um paciente, de tristeza ao perder outro, mas sempre grata por poder vivenciar estas coisas. Eu confesso que não tenho facilidade em escrever trabalhos técnicos e não tenho perfil para carreira acadêmica e de pesquisa, então me desculpem desde já.

O fim da residência está sendo um término de um ciclo, mas desta vez com um tom mais de despedida. Por ora não tenho pretensão de ficar na universidade, então me despeço após quase 8 anos que fiquei aqui. Preciso sair da minha zona de conforto, me desafiar. Meu coração aperta e meus olhos se enchem muito, mas é preciso. Posso não demonstrar muito, mas não consigo descrever a gratidão que tenho a este lugar, aos professores e todos que pude ter o prazer de conviver. Pra quem conheceu minha história de vida sabe o quanto eu evolui aqui, o quanto eu já tive que lutar comigo mesma, o quanto eu cresci e o quanto ainda preciso melhorar. Agradeço muito por fazerem parte.

Quando me perguntam o que fazer depois da residência eu respondo “não sei”. De fato, por mais que tenha alguns planos em mente, não sei como minha vida seguirá. Nunca temos certeza, só nos cabe dedicarmos e tentarmos. Se falhar, que seja um motivo para recomeçar. Se der certo, que eu seja feliz na minha escolha. Só o tempo dirá.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	Página 1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	Página 2
2.1. ETIOLOGIA	Página 2
2.2. STATUS INTERNACIONAL E NACIONAL	Página 4
2.3. TRANSMISSÃO	Página 5
2.4. PATOGENIA	Página 6
2.4.1. Mecanismo Imunológico	Página 7
2.5. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	Página 7
2.6. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS	Página 8
2.6.1. Diretos	Página 8
2.6.2. Indiretos	Página 9
2.6.3. Achados post mortem	Página 11
2.7. PRINCIPIOS DO CONTROLE E ERRADICAÇÃO	Página 12
2.8. PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE E ERRADICAÇÃO DA BRUCELOSE E TUBERCULOSE (Brasil, 2010)	Página 12
2.8.1. Critérios de vacinação	Página 13
2.8.2. Diagnóstico	Página 14
2.8.3. Animais com Reação Positiva aos testes	Página 15
2.9. IMPACTO NA SAÚDE HUMANA	Página 16
3. RELATO DE CASO	Página 17
Resumo	Página 17
Abstract	Página 17
Introdução	Página 18
Relato de caso	Página 19
Discussão	Página 21
Conclusão	Página 24
4. BIBLIOGRAFIA UTILIZADA	Página 25

1. INTRODUÇÃO

A Brucelose é uma doença causada por uma bactéria cocobacilo Gram negativa, intracelular facultativa do gênero *Brucella*. Atualmente existem 10 espécies do gênero *Brucella* descritas, cada uma com seu hospedeiro preferencial, não exclusivo, podendo o humano adquirir a doença (Constable et al., 2017).

De acordo com a *World Organisation for Animal Health* (OIE), a brucelose é uma das mais importantes zoonoses difundidas no mundo. A Brucelose Bovina é causada pela *Brucella abortus* e é caracterizada principalmente por abortos em terço final de gestação e afecções reprodutivas, causando muitos prejuízos econômicos, como diminuição da produção de carne, aumento do intervalo entre partos, aumento na taxa de reposição dos animais, queda da taxa de natalidade, queda na produção leiteira, além de depreciação dos produtos e o valor social da propriedade. Em casos de zoonose, o custo de tratamento e afastamento de funcionários também geram custos (Paulin, 2003).

No Brasil, a Brucelose Bovina é considerada endêmica, porém ainda há muita desinformação sobre a doença, seus sintomas e controle por parte dos criadores e tratadores de bovinos, dos produtores de leite e subprodutos (Barbosa, 2016). Desta forma, o diagnóstico é negligenciado dificultando o controle da doença no país. Com o objetivo de baixar a prevalência e incidência da doença, visando a erradicação no país, foi criado em 2001 o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT). Desta forma, há a padronização das medidas de controle e melhor monitoramento por parte do governo, que, ao ver o status da doença através das notificações feitas pelos veterinários, regularmente revisa suas ações e busca melhorias dos protocolos.

Visto que a brucelose bovina é uma doença de grande importância mundial e o médico veterinário tem papel fundamental na sanidade bovina, e conseqüentemente no controle dos casos em humanos, o objetivo deste trabalho é apresentar um levantamento bibliográfico da Brucelose Bovina, contextualizando a doença e os métodos de controle. Juntamente, apresentar um relato de rastreamento de propriedade positiva em ação conjunta entre Defesa Agropecuária e Universidade, à partir de um caso clínico atendido na Clínica de Bovinos e Pequenos Ruminantes da FMVZ-USP.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. ETIOLOGIA

A brucelose é uma zoonose de distribuição mundial causada por bactérias intracelulares facultativas, Gram-negativas, imóveis e não formadora de esporos.

Marston, em 1859, descreveu pela primeira vez a doença na Ilha de Malta, onde havia casos de pessoas manifestando febre, calafrios, mal-estar, linfadenopatia e, muitas vezes, choque e morte (Cardoso; Costa, 2012). Em 1887, David Bruce fez o primeiro isolamento da bactéria, provinda de soldados mortos da retro-referida ilha, denominando a bactéria como *Micrococcus melitensis*. Nos animais, foi isolada em 1895 por Bernard Bang um microrganismo nomeado *Bacillus abortus*, retirado de amostras bovinas providas de abortos. Em 1918, Alice Evans demonstrou similaridade entre os microrganismos isolados por Bruce e Bang e em 1920 Meyer e Shawn propuseram a criação do gênero *Brucella*, com os dois microrganismos *B. melitensis* e *B. abortus*. (Sola et. al, 2014).

As bactérias do gênero *Brucella* possuem o formato de bacilos curtos e dentro deste gênero são descritas dez espécies independentes, classificadas principalmente por diferenças na patogenicidade, hospedeiro, características bioquímicas e antigênicas (Riet-Correa et al., 2007). As espécies existentes são: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. neotomae*, *B. canis*, *B. ceti*, *B. pinipedialis*, *B. microti* e *B. inopinata* (Constable et al., 2017).

As bactérias do gênero *Brucella* podem ser divididas em dois grupos distintos com base na constituição química da parede celular. As colônias lisas possuem como constituinte do LPS, o lipídeo A, o núcleo oligossacáride e a cadeia O. As colônias rugosas possuem membrana externa com apenas o lipídeo A e o núcleo oligossacáride. As espécies *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* e *B. neotomae* normalmente apresentam morfologia de colônia lisa e quando sofrem mutações para formas rugosas ou mucóides, deixam de ser patogênicas (Sola et. al, 2014).

2.2. STATUS INTERNACIONAL E NACIONAL

A *World Organisation for Animal Health* (OIE) anualmente atualiza a lista de doenças de notificação obrigatória, que são aquelas transmissíveis e consideradas de importância socioeconômica e/ou para a saúde pública, com consequências no comércio internacional de animais e seus produtos. A brucelose é uma destas doenças e semestralmente os países tem que mandar relatórios contendo informações sobre seu status à OIE.

A figura 1 representa o panorama mundial no segundo semestre de 2018, estando presente em vários países. De acordo com o mapa, há países que não se tem informação da

doença, como Rússia e China, países endêmicos para a doença, como Índia e o Brasil, países que estão em processo de erradicação com apenas algumas áreas onde a doença está presente, como Estados Unidos e Chile e países com ausência da doença, como Canadá e Austrália.

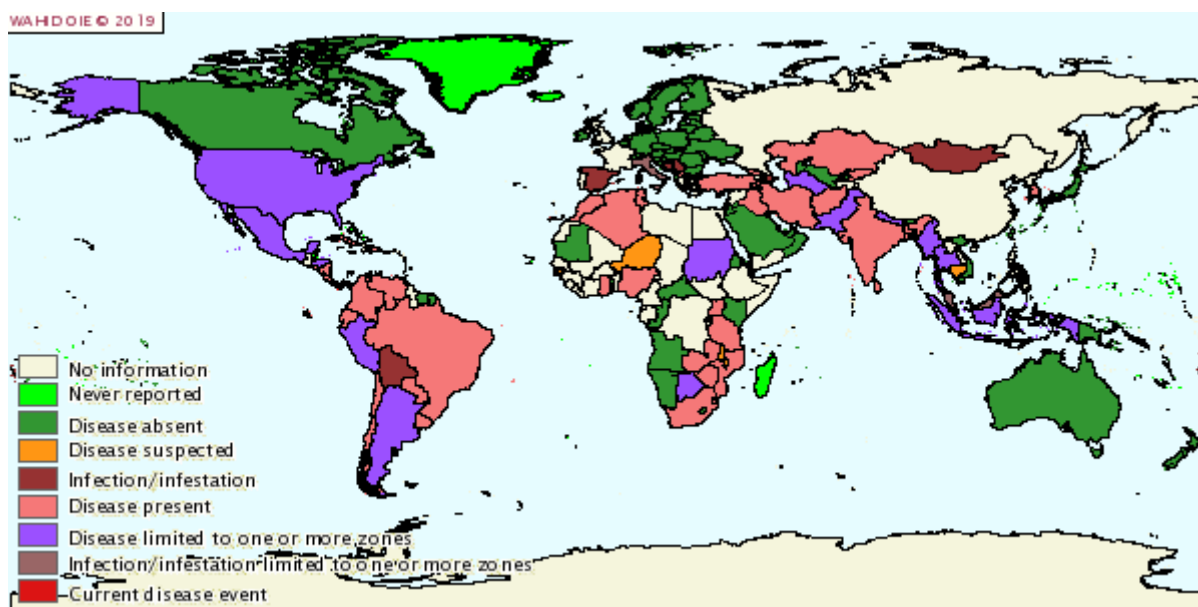


Figura 1: Situação Mundial da Brucelose no Segundo Semestre de 2018. World Animal Health Information Database (WAHIS, OIE).

O Brasil é endêmico para Brucelose e sua ocorrência é de notificação obrigatória aos órgãos de controle governamental. De acordo com o relatório da Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes Bovinas (ABIEC, 2019), o rebanho bovino em 2018 era em torno de 214 milhões de cabeças e, de acordo com o relatório semestral enviado à OIE, no segundo semestre de 2018 foram registrados 1580 casos de brucelose bovina no Brasil (MAPA, 2019), causada pela *B. abortus*, como demonstra o quadro 1. A brucelose causada por *Brucella melitensis* não foi registrada no país em qualquer espécie.

Quadro 1: Resumo da Brucelose Bovina no Brasil no segundo semestre de 2018 (MAPA, 2019)

Animais vacinados	Sucetíveis	Casos	Mortos	Abatidos e eliminados	Eutanasiados
6285567	77540	1580	25	232	1096

Ferreira Neto (2018) reportou que para o sucesso de um programa de controle e monitoração da doença num país é através dados coletados em estudos epidemiológicos, onde são estimados prevalências de focos. Em outro estudo realizado por Ferreira Neto (2016) descreve que as prevalências tendem a ser mais altas nas tradicionais regiões produtoras de

carne e onde há um bom programa de controle por vacinação as incidências são menores. A situação epidemiológica da Brucelose Bovina no Brasil é bem descrito em 85% da população bovina, mas ainda é muito desigual entre estados e regiões, como observado no quadro 2.

Quadro 2: Brucelose Bovina causada por *Brucella abortus* por Estado no Segundo Semestre de 2018 (MAPA, 2019)

Estado	Novos focos	Unidade	Susceptíveis	Casos	Mortos	Abatidos e eliminados	Sacrificados
Acre	1	Animais	39	5	0	0	0
Amapá	1	Animais	159	8	0	0	0
Amazonas	1	Animais	3035	1	0	0	1
Bahia	1	Animais	186	1	0	1	0
Goiás	12	Animais	5536	60	0	1	32
Maranhão	15	Animais	214	26	0	16	10
Mato Grosso	4	Animais	3226	12	10	10	2
Mato Grosso do Sul	2	Animais	1661	3	0	1	2
Minas Gerais	15	Animais	9090	30	0	2	17
Para		Animais	4466	40	0	9	22
Paraíba	3	Animais	25	3	0	2	0
Paraná	122	Animais	11336	238	1	106	181
Piauí	8	Animais	197	11	0	17	0
Rio de Janeiro	2	Animais	1038	4	0	4	0
Rio Grande do Norte	2	Animais	253	2	0	0	0
Rio Grande do Sul	52	Animais	5501	174	0	48	79
Roraima	13	Animais	9821	224	0	1	0
Santa Catarina	73	Animais	3914	716	14	14	743
São Paulo	1	Animais	10648	9	0	0	0
Tocantins	3	Animais	7195	13	0	0	7

2.3. TRANSMISSÃO

As brucelas permanecem no ambiente mas não se multiplicam. Elas são relativamente sensíveis aos fatores ambientais, exceto quando em condições favoráveis de pH, temperatura e luz, podendo resistir por bastante tempo, como observa-se no Quadro 3. Em locais com umidade e com substrato, como esgoto e fezes a *Brucella sp.* permanece por mais de 4 meses.

Quadro 3: Resistência de *Brucella sp* em algumas condições ambientais (Brasil, 2006)

CONDIÇÃO AMBIENTAL		TEMPO DE SOBREVIVÊNCIA
Luz solar direta		4-5 horas
Solo	Seco	4 dias
	Úmido	65 dias
	Baixas temperaturas	151-185 dias
Fezes		120 dias
Dejetos	Esgoto	8-240/700 dias
	Altas temperaturas	4 horas – 2 dias
Água	Potável	5-114 dias
	Poluída	30-150 dias
Feto à sombra		180 dias
Exsudato uterino		200 dias

Todas as espécies do gênero são sensíveis ao calor e à acidez, e quando submetidas à ação de desinfetantes comuns, como soluções de formaldeídos a 2%, produtos clorados (2,5% de cloro ativo), compostos fenólicos a 2,5% e permanganato de potássio (1:5000) são eliminadas em até 15 minutos. O álcool a 70% destrói imediatamente as bactérias enquanto o carbonato de cálcio (1:10) as elimina em 30 minutos (Brasil, 2006).

No leite e em produtos lácteos, quando em baixa concentração, são facilmente destruídas pelo calor. A pasteurização e os métodos de esterilização a altas temperaturas e fervura eliminam as brucelas. Na carne o tempo é variável, dependendo da quantidade de bactérias presentes, do tratamento sofrido e da correta eliminação dos tecidos que concentram maior quantidade de bactérias, como órgãos do sistema reprodutivo (Riet-Correa et al., 2007).

A transmissão da *Brucella spp.* pode ocorrer de forma horizontal e vertical. A transmissão horizontal ocorre geralmente por contaminação direta e, embora exista a possibilidade de introdução de infecção por moscas, cães, ratos, carrapatos, botas infectadas,

forragens e outros objetos inanimados, ela não é significativa quando comparada ao contato direto (Constable et al., 2017).

A bactéria penetra o organismo pelas mucosas oral, nasofaríngea, conjuntival ou genital e por solução de continuidade da pele. Dentre estas, a bactéria penetra principalmente pela via orofaríngea, onde o animal ingere água e alimentos contaminados ou ao lambe as crias recém nascidas. A transmissão via monta natural não é de grande importância, pois a imunidade vaginal dificulta a infecção. Entretanto, o uso da inseminação artificial com sêmen contaminado, mesmo que em pouca quantidade de agente, pode causar a infecção de forma eficiente devido a introdução direta do sêmen no útero. A transmissão pela transferência de embriões não apresenta riscos pois a bactéria é inativada durante o processamento, se seguida de acordo com os protocolos internacionais de obtenção dos embriões (Brasil, 2006).

A infecção congênita pode ocorrer em bezerros nascidos de vacas infectadas, mas sua frequência é baixa. A infecção ocorre no útero e pode permanecer latente durante o início da vida. Os bezerros são sorologicamente positivos por até 4 a 6 meses por causa de anticorpos colostrais e depois se tornam sorologicamente negativos, entretanto, em uma pequena proporção pode haver uma infecção latente. A fêmea pode permanecer sorologicamente negativa até seu primeiro parto, quando começa a se livrar do organismo (Constable et al., 2017).

2.4. PATOGENIA

Após penetração da mucosa, ocorre a fagocitose das bactérias por macrófagos e através deles são carregadas para os linfonodos regionais. As brucelas conseguem inibir a fusão do lisossomo com o fagossomo impedindo assim a degranulação dos macrófagos durante a fagocitose e, conseqüentemente, a destruição do agente. Desta forma, se direciona ao retículo endoplasmático rugoso, que é altamente permissivo para a sua replicação. Assim, a brucela pode se disseminar para outros linfonodos e órgãos, como baço, fígado, órgãos genitais e úbere, podendo permanecer no organismo por muito tempo (Constable et al., 2017).

Nos bovinos há uma predileção pela placenta devido à um hormônio sinalizador da maturação fetal chamada eritritol, presente em grandes concentrações em final de gestação. As brucelas multiplicam-se inicialmente no trofoblasto do placentoma, infectando também as células adjacentes, levando a uma reação inflamatória da placenta. Além disso, há infecção do feto, de igual modo por via hematogênica. A evolução do processo inflamatório leva a lesões necróticas-inflamatórias na placenta além de lise das vilosidades, resultando no descolamento dos cotilédones. Isto prejudica a circulação materno-fetal, dificultando e até mesmo

impossibilitando a passagem de nutrientes e oxigênio da mãe para o feto, provocando assim danos que variam de nascimento de bezerros subdesenvolvidos ao aborto. O feto geralmente é abortado 24 a 72 horas após a sua morte, sendo comum sua autólise (Riet-Correa et al., 2007, Sola et. al, 2014, Brasil, 2006, Paulin, 2003).

2.4.1. Mecanismo Imunológicos

A imunidade contra a brucelose é principalmente mediada por respostas imunes celulares, por se tratar de um patógeno intracelular. Brucelas são capazes de sobreviver nos leucócitos hospedeiros e podem usar neutrófilos e macrófagos para proteção contra mecanismos bactericidas humorais e celulares durante os períodos de disseminação hematogênica (Constable et al., 2017).

A resposta do anticorpo a *B. abortus* em bovinos consiste em uma resposta inicial do isotipo IgM, cujo tempo depende da via de exposição, da dose da bactéria e do estado de saúde do animal. A resposta IgM é seguida quase imediatamente por produção de anticorpo IgG1 e posteriormente por pequenas quantidades de IgG2 e IgA. Como os anticorpos IgG2 e IgA se acumulam mais tarde após a exposição e geralmente estão presentes em quantidades pequenas e inconsistentes. A observação por períodos prolongados da resposta humoral em animais infectados demonstra que há um leve decréscimo dos níveis de IgM, enquanto que os de IgG1 permanecem altos, inalterados, portanto, o principal isótipo para teste sorológico é IgG1. A observação por período prolongado em animais vacinados com B19, quando vacinados até 8 meses, demonstra que o nível de anticorpos decresce rapidamente depois de 12 meses. Por outro lado, se a vacinação for realizada acima de 8 meses de idade, os títulos vacinais tendem a permanecer elevados por mais tempo, podendo gerar reações falso positivas nos testes indiretos de diagnóstico. (Brasil, 2006).

2.5. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A principal manifestação clínica citada quando se trata de Brucelose é o aborto no terço final de gestação. Com o desenvolvimento de imunidade celular após o primeiro aborto, há uma redução no número e no tamanho das lesões de placentomas nas gestações subseqüentes. Com isso, o aborto torna-se infreqüente, aparecendo outras manifestações da doença, como, por exemplo, a retenção de placenta, a natimortalidade ou o nascimento de bezerros fracos, além de quadros de metrite ou endometrite crônica e consequentemente subfertilidade, infertilidade ou esterilidade (Sola et. al, 2014).

No touro, orquite e epididimite ocorrem ocasionalmente. O escroto apresenta edema agudo e doloroso e o seu tamanho pode ficar até o dobro do tamanho normal, embora os testículos possam não estar muito aumentados, podendo ser uni ou bilateral. O inchaço persiste por um tempo considerável, e o testículo sofre necrose de liquefação e acaba sendo destruído. As vesículas seminais podem ser afetadas e seu aumento pode ser detectado na palpação retal. Os touros afetados geralmente ficam estéreis quando a orquite é aguda, mas podem recuperar a fertilidade normal se o testículo não estiver danificado (Constable et al., 2017).

No aparelho locomotor, a *B. abortus* localiza-se na bursa, tendões, músculos e articulações, causando artrites, principalmente nas articulações carpianas e tarsianas, espondilites e bursites, especialmente nas vértebras torácicas e lombares, podendo atingir a medula óssea e bainha dos tendões, sendo o achado clínico clássico, o abscesso fistulado ou não na região da cernelha (Brasil, 2006).

2.6. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

O principal objetivo no diagnóstico laboratorial da brucelose é identificar animais infectados e os potenciais disseminadores da doença. A maioria dos animais infectados é identificável usando os testes sorológicos padrão, mas a infecção latente ocorre em alguns animais que são sorologicamente negativos. Além disso, os animais vacinados podem ser sorologicamente positivos e não infectados. Títulos transitórios ocorrem esporadicamente em uma pequena porcentagem de animais, para os quais não há uma explicação clara (Constable et al., 2017).

As reações falso-positivas encontradas nos testes sorológicos são decorrentes de dois fatores distintos. Primeiro, a reação pode ocorrer devido à presença de anticorpos não específicos presentes nas infecções por outras bactérias, como *Yersinia enterocolitica* O:9, *Salmonella* sp, *Escherichia coli* O:157, ou *Pseudomonas* sp. Segundo, podem decorrer como resultado da vacinação com B19 após a idade recomendada (Brasil, 2006)

2.6.1. Diretos

O isolamento e a identificação da *B. abortus* a partir de material de aborto (feto, conteúdo estomacal de feto, placenta) ou de secreções apresentam resultados muito bons se a colheita for da forma mais asséptica possível e o transporte da amostra for imediata, com refrigeração, bem realizada e processada em laboratórios capacitados e com experiência. Entretanto, devido ao risco de contaminação humana durante o seu processamento, são poucos os laboratórios que realizam o exame (Brasil, 2006).

O exame bacteriológico é executado em meios de cultura especiais. Em meio sólido e condições ideais, leva de 3 a 7 dias para visualização das colônias, embora se recomende a incubação por no mínimo 3 semanas. As colônias são pequenas, translúcidas, brilhantes, convexas, de bordos arredondados e bem definidos e, geralmente, de coloração leitosa. São consideradas gram-negativas e coram-se bem pelos métodos de Ziehl-Neelsen e Koster modificados. À microscopia ótica apresentam-se isoladas, aos pares ou em pequenos grupos (Paulin, 2003).

A imunohistoquímica pode ser procedida em material de aborto após a fixação em formol e permite tanto a identificação do agente como a visualização de aspectos microscópicos do tecido examinado (Brasil, 2006).

A PCR detecta um segmento de DNA específico da *B. abortus* em material de aborto, em secreções e excreções. É uma técnica bastante rápida, sensível e específica, mas requer equipamentos sofisticados e pessoal treinado. Não é necessário que o microrganismo esteja viável, e a PCR consegue detectar pequenas quantidades de microrganismos em diferentes substratos (Constable et al., 2017).

Na reação de PCR convencional, o fragmento alvo é detectado após o término da reação por eletroforese em gel, necessitando de um ligante de DNA para obter a coloração do produto de amplificação, acarretando assim um tempo maior para a visualização dos resultados, além da possibilidade de contaminação. Com o desenvolvimento da PCR em Tempo Real revolucionou-se os processos de quantificação de fragmentos de DNA e RNA, possibilitando o monitoramento da reação a cada momento, mostrando a síntese dos fragmentos alvo no decorrer da própria reação e não apenas no final. Ela é capaz de monitorar a fluorescência emitida durante a reação como um indicador da produção das amplificações em cada ciclo de PCR, gerando resultados com maior sensibilidade, precisão, velocidade nas análises, facilidade na quantificação, melhor controle de qualidade no processo e menor risco de contaminação, já que a reação ocorre em um sistema tubular fechado, não havendo a necessidade de eletroforese para a visualização das amplificações (Sola et. al, 2014).

2.6.2. Indiretos

A soraglutinação lenta em tubos (SAT) foi a primeira prova sorológica criada para a brucelose. Apresenta boa sensibilidade porém causa muitas reações falso-positivas (Paulin, LM, 2003). Dentre as suas limitações pode-se citar: detecção de anticorpos inespecíficos e específicos da infecção e vacinação; é um dos últimos testes a atingir níveis diagnósticos significativos durante o estágio de incubação e após aborto; no estágio crônico da doença pode

apresentar resultado negativo pela diminuição das aglutininas séricas (Constable et al., 2017). A SAT é utilizada em associação com o teste do 2-Mercaptoetanol para confirmar resultados positivos em provas de rotina. É uma prova padronizada frente a um soro padrão internacional (Brasil, 2006).

O Teste de Soroaglutinação com Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) é o teste sorológico utilizado na triagem no diagnóstico da Brucelose (Figura 2). É uma prova rápida, prática e com boa sensibilidade. É uma prova qualitativa, onde o antígeno é tamponado em pH ácido e corado com Rosa de Bengala detectando somente o IgG1, pois a acidificação do reagente inibe a aglutinação pela IgM (Brasil, 2006). Porém, como todo teste sorológico, há a chance de ocorrer reações falso positivas, mesmo que pouca, devido a utilização da vacina B19, sugerindo-se realização de outro teste para a confirmação da doença.



Figura 2: Reação Positiva ao teste AAT (Arquivo Pessoal)

O teste de 2-mercaptoetanol (2-ME) é utilizado para comprovação da doença, onde a interpretação dos resultados é com base na comparação entre resultados do 2-ME e SAT, conforme o quadro 4. Neste teste é adicionado ao reagente o 2-mercaptoetanol, que inibe a atividade aglutinante da IgM degradando-a em cinco subunidades. Além disso, o pH é ácido, promovendo uma maior reatividade da IgG1, impedindo a ocorrência da maioria das reações inespecíficas (Paulin, 2003).

Quadro 4: Interpretação dos resultados dos testes 2-ME e SAT (Brasil, 2006)

Teste		2-ME	
		Positivo	Negativo
SAT	Positivo	Animal infectado	Reação inespecífica ou resíduo vacinal
	Negativo		Animal Negativo

O teste de fixação de complemento (FC) é o teste de escolha em países que estão em fase de erradicação da doença e é o teste referência recomendado pela OIE para trânsito animal. Animais infectados possuem título de anticorpo fixadores de complemento mais elevados e por

períodos mais longos do que os detectados na prova de aglutinação. Em animais vacinados acima de 8 meses de idade ocorre o inverso, onde os anticorpos fixadores desaparecem mais rapidamente que os aglutinantes (Brasil, 2006). É um teste caro, realizado apenas em laboratórios específicos, porém apresenta menos reações inespecíficas e é rápido e preciso (Constable et al., 2017).

O Teste da Polarização da Fluorescência (FPA) é uma prova de simples execução e rápida, porém só é realizado em laboratórios especializados. Consiste na avaliação da taxa de rotação de uma molécula utilizando indicador fluorescente e luz polarizada. É utilizado antígeno preparado com o polissacarídeo O. A taxa rotacional de um anticorpo ligado ao antígeno é menor ao de um complexo antígeno-conjugado. Utilizando-se soros de controle negativo e positivo é possível determinar a quantidade de anticorpos presente e assim determinar o resultado do teste (Paulin, 2003).

Um teste que pode ser realizado para avaliação de rebanho é a Prova do Anel em Leite (TAL). Realizado três a quatro vezes no ano, geralmente é coletado amostra de leite do tanque da propriedade. É um teste rápido, prático, barato e de alta sensibilidade, sendo de grande valor na vigilância epidemiológica como triagem (Paulin, 2003). Os antígenos são corados com hematoxilina, dando coloração azul que, ao se combinar com os anticorpos, formará uma malha de complexo antígeno-anticorpo. Essa malha é arrastada pelos glóbulos de gordura, formando um anel azulado na camada superior. Em caso negativo, o leite permanecerá azulado. Este teste é passível de resultados falsos, onde pode ser positivo em leites ácidos ou provenientes de animais com mastite ou início de lactação. É necessário atentar quanto ao número de animais amostrados e a diluição do teste (Brasil, 2006).

Testes imunoenzimáticos (ELISA) são muito utilizados na Europa e América do Norte. Possui boa especificidade e sensibilidade, porém requer laboratório equipado e treinado. O teste de ELISA indireto (iELISA) detecta anticorpos de todos os isótopos, mas não consegue distinguir resposta induzida pela vacinação por B19 da infecção natural. O teste de ELISA competitivo (C-ELISA) utiliza anticorpo monoclonal específico para um dos epítomos de *Brucella spp.*, tornando-a mais específica mas menos sensível que o iELISA. Não eliminia todas as reações cruzadas possíveis, mas elimina a reação por anticorpo residual da vacina B19. É recomendado pela OIE como um dos testes confirmatórios (Brasil, 2006).

2.6.3. Achados post-mortem

Durante a fase de multiplicação celular, as brucelas podem provocar a formação de resposta inflamatória com modulação de macrófagos em células epitelióides, infiltração por

plasmócitos e linfócitos, podendo assim ocorrer focos de necrose no centro das lesões formadas nos órgãos invadidos com desenvolvimento de cápsulas ao redor devido à proliferação de tecido, caracterizadas por granulomas difusos. Pode ocorrer hiperplasia linfóide, esplenomegalia e até hepatomegalia (Sola et. al, 2014). Nos fetos provindos de abortos são observados edema, liquido sero-hemorrágicos nas cavidades, broncopneumonia e pneumonia intersticial (Riet-Correa et al., 2007).

2.7. PRINCÍPIOS DO CONTROLE E ERRADICAÇÃO

O objetivo de um programa de controle e erradicação de uma doença resume-se ao aumento do número de indivíduos resistentes na população e eliminação de indivíduos infectados. A primeira etapa consiste na vacinação como estratégia de controle, aumentando a cobertura vacinal e consequentemente diminuindo a porcentagem de indivíduos susceptíveis. Com a redução da prevalência da doença a níveis aceitáveis, a segunda etapa consiste em eliminar os animais positivos do rebanho, eliminando os focos (Sola et. al, 2014). Para a realização do programa é importante ressaltar a correta informação a todos os envolvidos, para facilitar a cooperação de todos durante todo o processo.

A principal forma de uma propriedade se contaminar é com a introdução de animais infectados, portanto é importante a instalação de normas de biossegurança, como a de conhecer a procedência dos animais a serem introduzidos na propriedade, além de realizar testes diagnósticos para garantir a sanidade do rebanho. Durante o período em que o animal ou o gado é examinado para a doença, o mesmo deve ficar isolado, impedindo a transmissão entre animais. Este período se denomina quarentena e a duração deve ser suficiente para realização dos testes e de possível manifestação da doença, variando entre 120 dias a 1 ano (Constable et al., 2017).

2.8. PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE E ERRADICAÇÃO DA BRUCELOSE E TUBERCULOSE (BRASIL, 2010)

O programa tem como objetivo baixar a prevalência e incidência da doença visando sua erradicação. A estratégia adotada para tal foi de criar unidades da federação quanto ao grau de risco, concentrar as informações em Serviços Veterinários Oficiais e Laboratórios credenciados pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA). A realização das atividades é feita por Veterinários cadastrados e habilitados, sendo que apenas os últimos podem fazer os testes diagnósticos, conhecimento adquirido através de curso realizado pelo MAPA. O PNCEBT introduziu a vacinação obrigatória contra a brucelose bovina e bubalina em todo o território nacional e definiu uma estratégia de certificação de propriedades livres ou monitoradas.

2.8.1. Critérios de vacinação

As vacinas são vendidas apenas com receituário emitido por veterinário cadastrado e a mesma deve ser retida no estabelecimento de venda por 1 ano.

A vacinação com a vacina B19, viva liofilizada, é obrigatória para fêmeas de 3 a 8 meses de idade, exceto em estados com risco desprezível. Deve-se tomar cuidado ao aplicar a vacina pois por se tratar de cepa viva, pode haver a contaminação humana acidentalmente. É proibida a vacinação de machos de qualquer idade e fêmeas acima de 8 meses pelo risco de haver soropositividade.

A vacina RB51 só é feita em esquemas diferenciados com características geográficas restritivas e é facultativa em animais acima de 8 meses de idade. A RB51 é feita com cepa mutante natural atenuada, não indutora de anticorpos aglutinantes, de baixa toxicidade e baixo efeito abortivo, porém é resistente à rifampicina, principal antibiótico utilizado no tratamento de brucelose humana. Não é permitida a vacinação de animais machos.

Os animais vacinados devem ser marcados na face esquerda através de ferro candente ou nitrogênio líquido com a letra V e, no caso da vacina B19, acrescido do algarismo final do ano de vacinação (Figura 3). Fêmeas com registro genealógico e animais cadastrados em sistema padronizado pelo Serviço Veterinário Oficial são isentos de marcação.

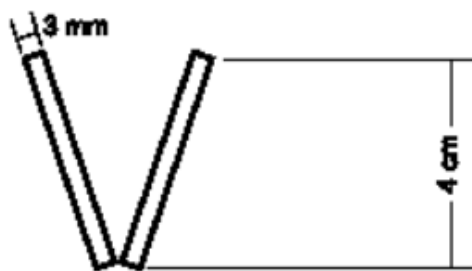


Figura 3: Normas para a marcação em animais vacinados para Brucelose.

O proprietário é responsável pela comprovação da vacinação ao Serviço Veterinário Estadual através de atestado emitido por veterinário cadastrado ou serviço veterinário oficial e deve ser feita semestralmente. Em propriedades com esquema diferenciado ou em regiões geográficas restritivas a comprovação é anual.

2.8.2. Diagnóstico

O diagnóstico é realizado através de testes sorológicos indiretos. Os antígenos utilizados nestes testes são distribuídos apenas para veterinários habilitados, laboratórios credenciados, instituições de ensino e pesquisa, e controlados pelo serviço veterinário oficial (SVO), conferindo os relatórios mensais de distribuição e utilização dos antígenos. A distribuição de antígenos pode ser feita pela iniciativa privada desde que adote os critérios definidos pelo SVO, referentes a conservação, comercialização e controle, além de garantir condições para transporte dos antígenos.

Os testes devem ser realizados em três categorias: fêmeas com idade igual ou maior que oito meses, não vacinadas ou vacinadas com a cepa RB51; fêmeas de idade igual ou maior que 24 meses, vacinadas com cepa B19; machos igual ou acima de 8 meses, destinados à reprodução. As amostras devem ser colhidas e identificadas individualmente.

O teste mais utilizado é o Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), considerado teste de rotina. A coleta e realização é feita por veterinário habilitado ou oficial. É possível enviar as amostras para laboratório credenciado. O teste é rápido e o resultado se baseia em aglutinação (positivo) ou não aglutinação (negativo). Em caso positivo, há 30 dias para teste confirmatório ou abate do animal.

O teste 2 Mercaptoetanol (2-ME) é utilizado como teste confirmatório e é realizado por laboratório credenciado. Em caso de resultado inconclusivo, há três possibilidades, abater o animal, retestar o mesmo depois de 30 a 60 dias ou realizar teste de Polarização Fluorescente ou Fixação de Complemento em até 30 dias. No caso de reteste, se o resultado for novamente inconclusivo o animal é considerado positivo.

O Teste de Polarização Fluorescente (FPA) é um teste único ou confirmatório em casos inconclusivos no AAT e 2-ME. Em casos inconclusivos neste teste, há as mesmas três possibilidades. O teste de Fixação de Complemento é um teste confirmatório e é utilizado para animais que serão submetidos a trânsito internacional ou em animais que tiveram resultados inconclusivos no AAT, 2-ME ou FPA.

Para monitoramento de estabelecimentos pode ser realizado o Teste do Anel em Leite (TAL), utilizado pelos Serviços Veterinários Oficiais ou veterinário habilitado, onde é coletado amostra do tanque da propriedade. Em caso reagente positivo, os animais devem ser testados individualmente.

2.8.3. Animais com reação positiva aos testes

Os casos positivos e inconclusivos devem ser notificados em até 1 dia útil ao Serviço Veterinário Estadual. Fêmeas que estejam no intervalo de 15 dias pré-parto até 15 dias pós-parto que tiverem resultados negativos devem ser retestadas de 30 a 60 dias pós parto ou aborto. Os focos de Brucelose devem ser oficialmente informados pelo SVO às autoridades locais de saúde humana.

Os animais positivos devem ser marcados pelo médico veterinário responsável pelo teste em face direita com a letra P, conforme a figura 4 e então serem isolados do rebanho e da produção.

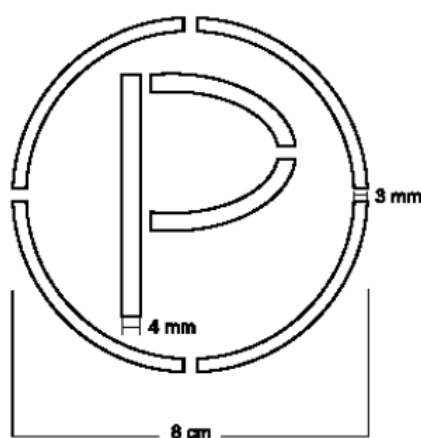


Figura 4: Normas para a marcação em animais positivos para Brucelose.

O abate sanitário deve ser realizado em até 30 dias em estabelecimentos sob serviço de inspeção oficial, sendo necessário o aviso prévio de pelo menos 12 horas e os animais devem ser sinalizados como positivos na Guia de Trânsito Animal (GTA). O abate deve ser no final da matança, com utilização dos corretos EPIs e encaminhamento ao Departamento de Inspeção Final. As carcaças que apresentarem lesões são julgadas conforme o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). As carcaças que não apresentarem lesões são liberadas para consumo, exceto úbere, útero e anexos do trato genital, miúdos e sangue.

Quando não for possível abater em estabelecimento sob serviço de inspeção oficial, o animal deverá ser eutanasiado no local de criação. O médico veterinário que realizou o diagnóstico deve notificar o serviço em até 1 dia útil e o proprietário se responsabiliza com os custos de destruição das carcaças. Não é permitido o egresso de animais positivos e inconclusivos da propriedade, salvo os animais que serão levados ao abatedouro oficial.

2.9. IMPACTO NA SAÚDE HUMANA

Considerando o tamanho e a distribuição do rebanho bovino brasileiro e as taxas de prevalência da infecção, a grande preocupação em relação à brucelose humana é a sua relação com a brucelose bovina, pois a principal forma de transmissão é por meio da ingestão de leite ou queijo não pasteurizados contaminados (Mathias, 2008). A brucelose humana é também considerada uma doença ocupacional, acometendo agricultores, trabalhadores de matadouros, açougueiros e médicos veterinários, pela manipulação de fetos e recém-nascidos, por contato com secreções e excreções vaginais, e carcaças de animais contaminados (Cardoso; Costa, 2012).

O diagnóstico no Sistema Único de Saúde é o mesmo dos bovinos, utilizando reação de aglutinação rápida, com reagente rosa bengala. O padrão ouro seria o isolamento do agente através de cultivo de amostras de tecido ou sangue da medula óssea mas, devido ao alto custo e indisponibilidade em certas regiões, o exame de ELISA é considerado eficaz, assim como o PCR. A incidência da brucelose humana pode ser considerado subestimado devido ao quadro clínico da doença, que é variável, podendo ser confundida com gripe recorrente. Assim, a doença acaba sendo erroneamente diagnosticada e não declarada às autoridades. Dentre as manifestações clínicas observa-se fadiga, cefaleia, dores musculares e sudorese, podendo haver complicações, como tromboflebite, espondilite e artrite periférica (Cardoso; Costa, 2012). Se agudo, o quadro pode evoluir para toxemia, trombocitopenia, endocardite e outras complicações, podendo ser fatal (BRASIL, 2006). O tratamento é longo e oneroso e a recuperação é lenta, podendo haver sequelas nos sistemas locomotores e nos equilíbrios psíquico e psicológico dos doentes. Além disso, o paciente acaba se afastando do trabalho por incapacidade, comprometendo suas atividades.

O controle é feito de forma multidisciplinar, onde o controle da doença nos bovinos é fundamental para o controle nos casos humanos. Medidas de proteção individual nos profissionais que atuam na área, além de controle sanitário no abate e obtenção dos produtos de origem animal são importantes. Programas de educação em saúde também são efetivos, orientando sobre consumo de produtos certificados e a busca por profissionais em casos de suspeita.

3. RELATO DE CASO

Interação entre a Defesa Agropecuária e Hospital Escola para Monitoramento da Brucelose Bovina

Interaction between Agricultural Defense and School Hospital for Bovine Brucellosis Monitoring

Resumo

A Brucelose Bovina é causada pela *Brucella abortus*, caracterizada principalmente por aborto em terço final de gestação e afecções reprodutivas. É uma doença de grande importância econômica e de caráter zoonótico, considerada de notificação obrigatória. O presente estudo relata o trabalho conjunto da Universidade e Defesa Sanitária em um caso de Brucelose ocorrido na Clínica de Bovinos e Pequenos Ruminantes da Universidade de São Paulo. Um bovino com afecção locomotora foi diagnosticado com brucelose ao ser testado juntamente com outro animal da propriedade que apresentava afecção reprodutiva. A Defesa Agropecuária foi acionada e o animal foi encaminhado para abate sanitário. Foi realizado trabalho em conjunto com a Defesa para monitoramento da Brucelose na propriedade. Seis animais da propriedade e três pessoas foram positivos para brucelose, ressaltando a potencialidade zoonótica da doença e a importância do médico veterinário no controle da doença nos animais e também das pessoas ao seu entorno.

Palavras-Chave: Aborto, zoonose, diagnóstico, abate sanitário, rebanho

Abstract

Bovine Brucellosis is caused by *Brucella abortus*, characterized mainly by abortion in the final third of pregnancy and reproductive disorders. It is a disease of huge economic importance and of a zoonotic character, considered of mandatory notification. The present study reports the joint work of the University and Agricultural Defense in a case of Brucellosis that occurred at the Bovine and Small Ruminant Clinic of the University of São Paulo. A bovine with locomotor disorders was diagnosed with brucellosis when tested together with another animal on the property that had reproductive disorders. The Agricultural Defense was activated and the animal was sent for sanitary slaughter. Work was carried out in conjunction with the Defense to monitor Brucellosis on the property. Six animals on the property and three people were positive for brucellosis, featuring the zoonotic potential of the disease and the importance of the veterinarian in controlling the disease in animals and also those around them.

Key words: Abortion, zoonosis, diagnosis, sanitary slaughter, herd

Introdução

A Brucelose Bovina é uma doença endêmica no Brasil, caracterizada principalmente por afecções reprodutivas e causa diversos prejuízos econômicos, como perda do animal, diminuição da produção de carne, aumento do intervalo entre partos, aumento na taxa de reposição dos animais, queda da taxa de natalidade, queda na produção leiteira, além de depreciação dos produtos e do valor social da propriedade (Paulin, 2003). É de notificação obrigatória ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e também na *World Organisation for Animal Health* (OIE), devido ao seu potencial zoonótico e importância econômica envolvido no trânsito internacional animal. Foram relatados 1580 casos no segundo semestre de 2018 em todo o Brasil (MAPA, 2019).

A brucelose bovina é causada pela *Brucella abortus*, uma bactéria cocobacilo gram negativa, intracelular facultativa. A transmissão ocorre principalmente por via horizontal, pela contaminação direta através de mucosas e solução de continuidade da pele, e menos frequente via vertical, congênita. Pode ocorrer transmissão via inseminação artificial, onde o sêmen contaminado é introduzido diretamente no útero, sem que haja a defesa natural do organismo por via natural (Brasil, 2006). A bactéria penetra a mucosa e é fagocitada pelos macrófagos, sendo levados aos linfonodos regionais, onde se multiplicam e são carreados para outros linfonodos e órgãos (Constable et al., 2017). As brucelas possuem predileção a uma substância chamada eritritol, presente na placenta em grandes concentrações no terço final de gestação, gerando um processo inflamatório que modifica a junção materno fetal, causando o descolamento de placenta e consequentemente o abortamento (Riet-Correa et al., 2007). Além disso, podem ocorrer lesões articulares e em bursa, orquite e infertilidade (Sola et. al, 2014). A transmissão para o humano ocorre também pelo contato direto, através ingestão do leite e seus subprodutos sem o correto processamento e através da manipulação destes animais sem uso de equipamentos de proteção individual.

Com o objetivo de padronizar e regulamentar os métodos de diagnóstico, prevenção e controle da doença, foi criado pelo governo em 2001 o Programa de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose. O teste diagnóstico recomendado pelo MAPA para a triagem é o antígeno acidificado tamponado (AAT), onde a amostra de soro animal é misturado com o antígeno e, se positivo, há a formação de grânulos. Pode ser realizada por médico veterinário habilitado e apresenta boa sensibilidade. Para confirmação, deve-se realizar em laboratório credenciado o teste de 2-mercaptoetanol (2-ME) comparado com o teste de aglutinação lenta. Estes testes são específicos e necessitam de equipamentos e pessoas capacitadas (Brasil, 2006).

Outros testes diagnósticos podem ser realizados, porém são menos acessíveis e de custo mais alto. Por se tratar de uma doença de caráter zoonótico, o controle da doença é fundamental, através da vacinação de fêmeas entre 3 e 8 meses de idade com a vacina viva B19, realização dos testes diagnósticos nos animais e notificação em caso de positividade às autoridades, com posterior abate sanitário.

Visto que a atuação do médico veterinário é importante no controle da brucelose bovina e também na prevenção da brucelose humana, o objetivo deste trabalho é relatar um caso de brucelose bovina ocorrido na Clínica de Bovinos e Pequenos Ruminantes da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CBPR-FMVZ-USP), descrevendo os procedimentos realizados para o diagnóstico e as ações sanitárias adotadas de forma coletiva entre o hospital escola e a Defesa Agropecuária local.

Relato de Caso

No dia 13 de Fevereiro de 2019 deram entrada na Clínica de Bovinos e Pequenos Ruminantes da Universidade de São Paulo (CBPR-FMVZ USP) dois animais, bovinos, fêmeas, das raças Girolanda e Jersey, de 2 e 5 anos de idade, nomeadas aqui de animal 1 e 2, respectivamente. Os animais são provenientes de propriedade localizada em Vargem Grande Paulista, São Paulo. São 25 animais no total, criados em piquetes, com suplementação mineral e ração comercial própria para a espécie. Os animais não são vacinados. A reprodução é feita por monta natural. A finalidade da criação é produção de leite para consumo próprio, na forma crua ou na produção de queijos.

Na anamnese, o proprietário relatou que o animal 1 apresentava claudicação em membro posterior direito há cerca de 45 dias, sem histórico de trauma. O animal estava prenhe, primeira cria, porém sem data de cobertura pois fica em pasto com macho. No exame físico não foi constatada alteração nos parâmetros vitais. No exame específico do membro acometido, o mesmo apresentava motilidade patelar normal, sem aumento de sensibilidade e sinais de inflamação, apresentava atrofia muscular na região isquiática e demonstrava menor flexão da articulação do joelho.

O animal 2 tinha histórico de abortamento há 4 meses, com posterior infertilidade, mesmo sendo observado cio e monta. Na palpação retal observou-se útero túrgido com os cornos simétricos, corpo lúteo em ovário esquerdo e folículo em ovário direito. Na vaginoscopia observou-se cérvix aberta, mucosa íntegra e de coloração rósea clara. No exame ultrassonográfico transretal o útero apresentava-se com pequena quantidade de líquido de característica anecoica, corpo lúteo pouco vascularizado e o folículo apresentava cerca de

15mm. Suspeitou-se de cisto folicular e então foi realizado cloprostenol na dose de 500µg e a mesma ciclou dois dias depois.

Foi realizado teste cervical comparado para tuberculose nos dois animais como teste admissional, sendo consideradas negativas. Foram coletados amostras de sangue dos dois animais para o teste de triagem para brucelose, justificado pelo histórico de aborto, infertilidade do animal 2 e ausência de vacinação. O sangue foi coletado pela veia caudal em tubo seco. Os soros foram separados por centrifugação e as amostras, identificadas individualmente, foram enviadas para o Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico para a realização dos testes AAT e, 2-ME/SAL. O animal 1 foi positivo aos dois testes, enquanto o animal com histórico de aborto foi negativo.

Por se tratar de uma doença de notificação obrigatória, foi feita a notificação para a Secretaria da Defesa Agropecuária através de formulário no dia 19 de fevereiro. Como procedimento padrão, a universidade teve a interdição pelo sistema GEDAVE no dia 21 de fevereiro. Esta interdição impede que o local onde está o animal não consiga receber ou liberar animais até atuação da Defesa. Como se tratava de animal internado no hospital da universidade, a equipe técnica da CBPR e o Escritório da Defesa Agropecuária (EDA) do município de São Paulo entraram em contato com o proprietário para notificar e explicar a situação e as opções sanitárias disponíveis, e optou-se pelo abate sanitário em abatedouro. No dia 22 de Fevereiro o animal foi encaminhado para o abate, em caminhão lacrado. A universidade foi então desinterditada e a vigilância epidemiológica foi notificada.

No momento em que diagnosticou a brucelose em um animal houve-se a preocupação em relação aos outros animais do rebanho. No dia 20 de Fevereiro, foi realizada uma visita à propriedade com a finalidade de coletar amostras sanguíneas dos animais com idade superior a 24 meses para triagem da doença no rebanho. As amostras foram identificadas individualmente, refrigeradas, processadas e enviadas para o Instituto Biológico. Foram testados 12 animais, 11 fêmeas e 1 macho, e 3 fêmeas foram positivas para brucelose. Foi feito nova notificação à Defesa, e o mesmo protocolo foi adotado na propriedade, com a interdição e o abate sanitário destes animais.

Cerca de 50 dias depois, no dia 11 de Abril foi realizado nova coleta de sangue e teste do animal que permaneceu na universidade e também dos animais da propriedade com a finalidade de monitoração. Dois dos nove animais testados da propriedade, antes negativos, foram positivos e protocolo foi novamente instituído, abatendo-se estes animais. O animal que estava na universidade foi liberado para retorno à propriedade no dia 05 de Maio pós segundo teste negativo, fechando o diagnóstico definitivo da queixa inicial como cisto folicular.

Por se tratar de uma zoonose houve um trabalho realizado pela Secretaria de Saúde do Estado. A Vigilância Epidemiológica foi notificada da positividade de seis animais e foi à propriedade para fazer um levantamento. Os animais eram criados para obtenção de leite para consumo próprio, inclusive na produção de queijos. O proprietário apresentava intenção de comercializar os queijos futuramente e foi orientado a procurar os órgãos responsáveis para legalização e fiscalização dos mesmos. Todas as pessoas envolvidas com os animais e seus produtos foram testados para a brucelose humana e, apesar de não relatarem sintomatologia da doença, 3 dos 12 testados foram positivos. O tratamento foi instituído com Doxiciclina e Rifampicina durante um mês e meio. Foram dadas orientações acerca da doença e sua transmissibilidade e de boas práticas de manejo.

Discussão

A Brucelose é uma doença presente por todo o Brasil, porém ainda há muito desconhecimento da doença, dos sintomas e consequências. No relato acima houve a presença da doença em 42,86% dos animais (6 positivos de 14 animais suscetíveis acima de 24 meses) e em 25% dos humanos (3 dos 12 testados). Os contactantes não apresentavam sintomas e desconheciam o risco de consumir os produtos dos animais, que não eram vacinados e não eram testados até o ocorrido.

Piva Filho et al. (2017) fizeram um levantamento sobre a prevalência da brucelose e tuberculose em rebanhos leiteiros e a percepção dos produtores de leite sobre o risco dessas enfermidades para a saúde pública, no município de Paranaíba, MS. A ocorrência da brucelose no rebanho estudado foi de 2,38% e 64,3% dos produtores não tem conhecimento sobre doenças transmitidas pelo leite, 83,3% não conhecem o PNCEBT apesar de vacinar os animais e 85,7% não utilizam equipamentos de proteção individual ao manipular carcaças, restos de aborto e secreções biológicas. Apesar da baixa ocorrência das doenças no rebanho foi notado uma grande desinformação por parte dos produtores sobre medidas de manejo sanitário e fatores de risco associados à sua ocorrência.

É importante que se saiba a situação epidemiológica real da brucelose por estados e regiões para definir as melhores estratégias sanitárias para cada região, dependendo da frequência e padrão da população estudada pois o Brasil é um país grande e muito heterogêneo. Até a criação do PNCEBT a situação epidemiológica da brucelose não era muito conhecida. No estado de São Paulo, a Coordenadoria de Defesa Agropecuária (CDA), por meio das suas 40 unidades regionais, é responsável pelo monitoramento dos rebanhos paulistas, preservando e assegurando sua qualidade sanitária. A vigilância é realizada de forma passiva através do

sistema de Gestão de Defesa Animal e Vegetal (GEDAVE), onde são registrados os dados de rebanho, controle das vacinações e emissão dos certificados dos mesmos (Cruz; Mathias, 2018). Além disso, a preocupação com diagnóstico e notificação da doença pelos médicos veterinários que estão diretamente envolvidos com as propriedades são de grande contribuição para vigilância da CDA.

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) foi criado para padronizar e regulamentar os métodos de prevenção, diagnóstico e controle, com o objetivo de melhorar a eficácia no combate à doença. Bartoli e Mathias (2010) realizaram um estudo comparativo dos testes considerados padrão pelo PNCEBT e concluíram que há concordância entre o teste de triagem e teste confirmatório. Entretanto, assim como todo teste sorológico, os testes são sujeito a erros, tanto pela ocorrência de resultados falso-positivos quanto falso-negativos. Um vez que um soro contendo título elevado em um teste pode apresentar resultado negativo em outro, recomenda-se a repetição periódica dos testes até o completo saneamento do rebanho, tornando-se o resultado mais confiável. No relato, os testes foram repetidos após 50 dias para monitoração do rebanho e animais antes negativos foram positivos, reforçando a importância de regularmente repetir os exames para controle da doença no rebanho.

O diagnóstico clínico por muitas vezes é negligenciado, visto que o animal positivo relatado não apresentava os sinais clássicos da doença e foi testado para brucelose juntamente com o outro animal que o acompanhava e apresentava afecção reprodutiva. Viana et al. (2010) observaram que o diagnóstico clínico da brucelose em abatedouro é pouco segura e eficaz, pois os sinais e lesões são difíceis diferenciar e não há obrigatoriedade de certificação sorológica das propriedades. Desta forma, concluíram que é um risco à saúde dos trabalhadores e também do consumidor final, sendo necessária a utilização de critérios mais seguros e práticos do diagnóstico de animais destinados ao abate convencional.

Para sucesso de um programa de erradicação são fundamentais três pontos: informação, ação e fiscalização. Um estudo realizado por Barbosa et al. (2016) analisou o conhecimento de 40 produtores rurais do sul do Piauí acerca da importância da Brucelose para a saúde pública e concluiu que 45,5% sabem identificar os sinais da brucelose, 100% acham que a brucelose causa prejuízo ao produtor e que a vacinação é importante, 62,5% sabem dos prejuízos para a saúde humana e 43,3% sabem como prevenir e combater a doença, porém, apenas 8,45% possuem assistência veterinária na vacinação, 5% recebem orientações técnicas na propriedade e ninguém realiza testes sorológicos regulares e exige testes ao adquirir animais. As justificativas para tais resultados incluem: falta de ações e programas de educação sanitária

continuada, falhas no sistema de extensão rural, desinformação da população local, carência de assistência técnica e não obrigatoriedade da realização dos testes e custos dos mesmos.

Pontos críticos de controle em uma propriedade envolvem o correto manejo sanitário, inclusive na ordenha, pois o leite é fonte de infecção; presença de outros animais suscetíveis na propriedade, como cães e equinos. Os equinos podem apresentar lesões articulares e em cernelha e os cães podem carrear produtos advindos de aborto (Brasil, 2006). Ferreira Neto et al (2016) cita que o mais contribuiu para a disseminação da brucelose no país é a introdução de animais sem teste prévio, o que pode ser resolvido com um programa de educação massiva sobre saúde, informando e ensinando a importância do controle da doença.

A orientação técnica é um importante meio de levar aos pequenos produtores as informações necessárias ao desenvolvimento e melhoramento de práticas agropecuárias, visando à geração de emprego e renda na propriedade rural e o bem-estar da família. Essa orientação é feita através de contatos direto com os produtores em forma de palestras, reuniões, seminários, demonstrações e outros meios que facilitem o entendimento por parte dos pequenos produtores (Barbosa et al., 2016). Um estímulo aos produtores para adesão ao Programa seria aumentar o valor agregado dos produtos ao adotar selo de qualidade sanitária, permitindo uma melhor compensação por propriedades e produtos certificadas como livres (Ferreira Neto et.al, 2016).

Na propriedade do relato observou-se que o proprietário desconhecia sobre a doença e da sua importância, de forma que, após o ocorrido, o mesmo buscou se informar melhor, monitorar seu rebanho e iniciar manejos sanitários, como a vacinação nas bezerras e cuidados na introdução de novos animais na propriedade.

Em relação à brucelose humana, o controle da doença no bovino é a principal método de controle da doença humana, pois a maior fonte de infecção é através da ingestão de produtos de origem animal não processados e manuseio dos animais, das secreções e vacinas sem uso de equipamentos de proteção individual. O proprietário, por ser responsável na produção de queijos para consumo local, também se viu parte responsável no controle da doença nas pessoas ao seu redor. Sousa et.al (2018) fez um levantamento dos casos de brucelose notificados em Araguaína- Tocantins, estado onde é compulsória a notificação dos casos humanos. Foram avaliados 636 fichas, sendo 44 confirmados. O perfil dos positivos teve em média pessoas com idade de 36 anos e predominantemente homens. As formas de transmissão mais frequentes foram o contato com a vacina viva e manipulação de tecidos, secreções e/ou animais infectados.

Silva et al. (2018) realizou um trabalho que avaliou a presença de brucelas em queijos minas artesanais, historicamente caracterizada pela utilização de leite cru. Cinquenta e cinco

amostras de queijos foram submetidas à PCR para detecção de *Brucella spp.* e 17 amostras deram positivas. Apesar de existir normativa que exige rebanhos negativos para fornecimento do leite e que um correto processo de maturação garante a inativação da bactéria, estas regras nem sempre são respeitados pelos produtores, concluindo que estes queijos podem ser um risco à saúde humana e reforça a importância do controle do rebanho e fiscalização adequada.

Conclusão

A brucelose é uma doença antiga, porém ainda muito presente no Brasil. O rebanho bovino é suscetível e é fundamental que haja programas de controle e fiscalização eficientes. Ainda há muitos fatores a serem melhorados. O caso relatado demonstrou o desconhecimento da doença por parte do proprietário e as consequências resultantes, onde seus animais e também pessoas foram positivas para a doença. Desta forma é de suma importância a atuação do médico veterinário juntamente com a Defesa Agropecuária no diagnóstico, no controle sanitário e principalmente na disseminação do conhecimento, de forma a orientar os produtores quanto ao risco para o animal e também daqueles que os cercam

4. BIBLIOGRAFIA UTILIZADA

ABIEC. **BeefREPORT**: Perfil da Pecuária no Brasil. São Paulo: Abiec, 2019

BARBOSA, Emanuella Soares et al. Perfil do conhecimento dos produtores sobre a brucelose na saúde pública, em Redenção do Gurgueia - Piauí. **Pubvet**, [s.l.], v. 10, n. 11, p.821-825, nov. 2016. Editora MV Valero. <http://dx.doi.org/10.22256/pubvet.v10n11.821-825>.

BARTOLI, Raphaella Barbosa Meirelles; MATHIAS, Luís Antonio. Estudo comparativo entre os testes adotados pelo PNCEBT para o diagnóstico sorológico da brucelose em bovinos. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, p. 11-17. out. 2010

BRASIL; MAPA, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Manual Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT)**. Brasília: Biblioteca Nacional de Agricultura - Binagri, 2006. 188 p

BRASIL. MAPA. Instrução Normativa SDA nº 10, de 03 de março de 2010. **Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - Pncebt e A Classificação das Unidades da Federação**. 2010.

CARDOSO, Suellen Cristina Teixeira; COSTA, Ligia Maria Cantarino da. A Brucelose no Brasil sob o enfoque da saúde pública. In: MOSTRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA DA PÓS-GRADUAÇÃO LATO SENSU, 7., 2012, Goiás. **Caderno de Artigos da 7ª Mostra de Produção Científica da Pós-Graduação Lato Sensu**. Goiás: Puc Goiás, 2012. v. 1, p. 430 - 449

CONSTABLE, Peter D. et al. **Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats**. 11. ed. Missouri: Elsevier, 2017. 2308 p.

CRUZ, Carolina de Alvarenga; MATHIAS, Luis Antonio. **Indicadores relacionados à evolução do Programa de Controle e Erradicação da Brucelose Bovina no Estado de São Paulo**. 2018. 51 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Unesp Jaboticabal, Jaboticabal, 2018

FERREIRA NETO, José Soares. Brucellosis and tuberculosis in cattle in South America. **Brazilian Journal Of Veterinary Research And Animal Science**, São Paulo, v. 55, n. 2, p.1-23, 26 jul. 2018. Universidade de Sao Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBiUSP. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2018.141139>.

FERREIRA NETO, José Soares et al. Analysis of 15 years of the National Program for the Control and Eradication of Animal Brucellosis and Tuberculosis, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 37, n. 52, p.3385-3402, 9 nov. 2016. Universidade Estadual de Londrina. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n5supl2p3385>.

MAPA, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Informes Zoossanitários**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/informes-zoossanitarios>>. Acesso em: 31 out. 2019.

MATHIAS, Luís Antônio. Brucelose Animal e suas implicações em Saúde Pública. In: RAIB, 21, 2008, São Paulo. Palestra. São Paulo. **O Biológico**, p. 47 –48, 2008

MIONI, Mateus de Souza Ribeiro. **Soroprevalência da brucelose bovina em frigoríficos com diferentes níveis de serviço de inspeção no estado de São Paulo**. 2015. 49 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/132107>>.

OIE, World Organisation For Animal Health -. **Brucellosis**. Disponível em: <<https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/Brucellosis/>>. Acesso em: 14 out. 2019.

OIE, World Organisation For Animal Health -. **WAHIS interface**. Disponível em: <https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap/index/newlang/en?disease_type_hidden=&disease_id_hidden=&selected_disease_name_hidden=&disease_type=0&disease_id_terrestrial=182&species_t=0&disease_id_aquatic=-999&species_a=0&sta_method=semesterly&selected_start_year=2018&selected_report_period=2&selected_start_month=1&date_submit=OK>. Acesso em: 14 out. 2019.

OLIVEIRA, Juliana Maldonado de et al. Conscientização de problemas na saúde pública com doenças de tuberculose e brucelose em assentamentos. **8º Congresso de extensão universitária da UNESP**, p. 1-5, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/142467>

PIVA FILHO, Gilson Luiz et al. Ocorrência da brucelose e tuberculose bovina e percepção de riscos no Mato Grosso do Sul, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 84, p.1-5, 11 out. 2017

PAULIN, Lilia Marcia. Brucelose. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, p. 239-249. jun. 2003.

RIET-CORREA, Franklin et al. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3. ed. Santa Maria: Varella, 2007. 2 v

SILVA, Marcio Roberto et al. Ocorrência de Brucella em queijo Minas artesanal da microrregião do Serro: um importante problema de saúde pública. **Revista Médica de Minas Gerais**, [s.l.], v. 28, p.79-84, 2018. <http://dx.doi.org/10.5935/2238-3182.20180121>

SOLA, Marília Cristina et al. **Brucelose Bovina: Revisão**. Goiás: Enciclopédia Biosfera, 2014.

SOUSA, Natalia de Freitas; ALEXANDRINO, Bruna; SANTOS, Helciléia Dias. **Perfil Epidemiológico dos Casos de Brucelose Humana Notificados no Município de Araguaína - Tocantins, no período de 2010 a 2016**. 2018. 59 f. Tese (Mestrado) - Curso Pós-Graduação Em Sanidade Animal E Saúde Pública, Universidade Federal de Tocantins, Araguaína, 2018.

VIANA, Leógenes de Melo et al. Soropositividade e lesões sugestivas de Brucelose em bovinos abatidos no estado de Tocantins, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 3, n. 77, p.517-520, jul. 2010.