

ANTICORPOS ANTI *Brucella abortus* EM HUMANOS EXPOSTOS A FATOR DE RISCO OCUPACIONAL

TRINDADE, P.S¹., STARK, C. B.; RECUERO, A.L.C²., FERNANDES, C.P.H².,
BROD, C.S²., DA SILVA, C.M¹.

Resumo

A brucelose é uma zoonose endêmica em muitas regiões do mundo. Os casos da infecção em humanos estão associados, principalmente, ao consumo de produtos lácteos não pasteurizados, manuseio de carnes cruas, consumo de carne mal cozida e contato direto com animais infectados. Entre as profissões consideradas de risco para a infecção estão as de tratadores de animais, funcionários de frigoríficos e de médico veterinário. A vacinação para a brucelose bovina utilizada no Brasil, constituída por bactérias da cepa B19 de *B. abortus*, é patogênica para o homem, devendo o manipulador utilizar equipamentos de proteção individual (EPIs) para evitar acidentes vacinais. O diagnóstico da brucelose é realizado através do isolamento da bactéria ou detecção de anticorpos em soro de animais e humanos infectados. A identificação indireta da infecção através de testes sorológicos possibilita ainda a diferenciação da classe de anticorpos presente no soro testado podendo ser identificada a infecção recente ou doença em curso. O objetivo deste estudo foi de identificar a prevalência da infecção para brucelose em veterinários que realizam vacinação em rebanhos para a brucelose no município do Rio Grande, RS, Brasil. Para identificação de soros reagentes foram utilizados os testes de aglutinação com antígeno acidificado tamponado (AAT), teste de aglutinação lenta em tubos (SAT) e teste do 2-mercaptoetanol (2-ME) para diferenciação de classe de anticorpo aglutinante. Da população estudada, 25 % foram reagentes no teste do AAT e 17 % reagentes no teste de aglutinação lenta em tubos, padrão para o diagnóstico laboratorial de brucelose. Concluiu-se que os profissionais de risco para infecção por brucelose por manuseio da vacina B19 para brucelose devem realizar atualizações e treinamentos em metodologias vacinais e uso de EPIs para prevenção de acidentes e, conseqüentemente, de infecções por *B. abortus*.

¹Universidade Federal do Rio Grande – FURG

²Centro de Controle de Zoonoses – Faculdade de Veterinária/UFPel
Campus Universitário – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900

Introdução

A brucelose bovina é uma zoonose endêmica em muitas regiões do mundo (GOMEZ *et al.*, 2008) e os casos relatados em humanos estão associados ao consumo de produtos lácteos não pasteurizados e contato com animais infectados, caracterizando um fator de risco ocupacional para médicos veterinários e tratadores de animais e funcionários de frigoríficos (MITKA *et al.*, 2007; ACHA e SZYFRES, 2003).

O diagnóstico da brucelose é realizado através do isolamento da *Brucella* ou pela detecção de anticorpos em soro de animais e humanos infectados (ACHA e SZYFRES, 2003). A identificação indireta da infecção através de testes sorológicos é a mais utilizada devido à maior sensibilidade quando comparada ao procedimento de isolamento da bactéria (GOMEZ *et al.*, 2008). Vários testes que detectam anticorpos em amostras de soro ou leite foram desenvolvidos, entre eles o teste de aglutinação macroscópica utilizando antígeno acidificado tamponado (AAT), testes imunoenzimáticos, de fixação de complemento, Coombs indireto (Paulin, 2003) e teste de polarização da fluorescência (NIELSEN *et al.*, 1998).

No Brasil, o controle da brucelose bovina inclui a vacinação obrigatória de fêmeas e a realização de testes diagnósticos de triagem em amostras de leite e de soro, e a confirmação de caso através do teste de aglutinação lenta em tubos (SAT) e o teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME), realizados simultaneamente para a diferenciação de infecções e anticorpos vacinais (BRASIL, 2006).

Para o diagnóstico da brucelose humana causada pelo antígeno *B.abortus*, o teste de referência para o diagnóstico também é o SAT, desenvolvido por Wright e colaboradores, associando-se a epidemiologia e clínica compatíveis com a enfermidade (MITKA *et al.*, 2007).

Áreas endêmicas para brucelose bovina possuem indivíduos humanos com anticorpos anti *Brucella*, tendo sido sugerida a proporcionalidade de reatividade em humanos e a prevalência presente na população animal (ACHA e SZYFRES, 2003). Portanto, a identificação de anticorpos específicos em soros humanos sugere o contato com o agente e presença de fatores de risco para infecção, sendo que medidas de educação sanitária e de proteção individual devem ser recomendadas e adotadas para que a enfermidade não ocorra na população exposta ao risco (LUCERO *et al.*, 1999). Como a brucelose humana é uma das zoonoses mais importantes e difundidas no mundo, com incidência anual de cinco mil novos casos e por ser de difícil diagnóstico clínico, pois sua sintomatologia é inespecífica (POESTER *et al.*, 2002; PAPPAS *et al.*, 2006) os testes sorológicos são de grande importância para confirmação de casos e identificação da exposição ao agente.

Entre as profissões de risco para brucelose destaca-se a de médico veterinário, por seu contato direto com fontes de infecção desta doença (ACHA e SZYFRES, 2003).

A atuação destes profissionais inclui o atendimento a parições, diagnóstico de gestação e vacinação de rebanhos. Entre estes procedimentos, a vacinação destaca-se como de grande importância para possíveis infecções, procedimento que embora seguro necessite de proteção individual para proteção do contato com o antígeno vacinal elaborado com bactérias vivas que podem causar infecção em humanos (BRASIL, 2006).

O objetivo deste trabalho foi de identificar anticorpos anti *Brucella* na população de risco de médicos veterinários que realizam rotineiramente a vacinação de bovinos contra brucelose.

Materiais e Métodos

População estudada

A população estudada constituiu-se de médicos veterinários cadastrados na inspetoria veterinária do estado do Rio Grande do Sul, atuantes no município de Rio Grande, responsáveis por aplicação de vacinas anti *Brucella abortus* cepa B19 em rebanhos daquele município. A inclusão dos profissionais na amostra foi realizada após a aceitação do formulário de aceitação livre e esclarecida.

Amostras de soro

A coleta de sangue foi realizada após o consentimento dos profissionais participantes do estudo e um volume de 10 mL foi coletado em condições assépticas. Após a coleta o sangue foi centrifugado a 3.000 rpm por 5 min, separado o soro sobrenadante e estocado a -20 °C.

Teste do antígeno acidificado tamponado para diagnóstico de brucelose (AAT)

Para a realização do teste as amostras de soro previamente coletadas foram retiradas do estoque, descongeladas a temperatura de 20 °C, homogeneizadas e de cada amostra utilizado 30 µL de soro para reação com 30 µL de antígeno para AAT, constituído de suspensão do antígeno de *B. abortus* amostra 1119-3. O homogeneizado de soro em teste e antígeno foi agitado a 30 rpm durante 4 min. O mesmo volume de soro e antígenos foram utilizados para os soros controle negativo e positivo incluídos no teste. A leitura foi realizada em caixa de luz com fundo escuro e foi considerado positivo o soro capaz de aglutinar o antígeno.

Teste de aglutinação lenta em tubos (SAT) e 2-Mercaptoetanol (2-ME)

Para a realização do teste as amostras de soro previamente coletadas foram retiradas do estoque e descongeladas a temperatura de 20 °C e diluídas em soluções de antígeno de *B. abortus* amostra 1119-3 na concentração de 0,045 % nas diluições 1:25, 1:50, 1:100 e 1:200 para o SAT. Paralelamente as mesmas diluições do SAT foram realizadas em 0,1M de 2-ME e após 30 min adicionadas de uma suspensão de antígeno *B. abortus* amostra 1119-3 na concentração de 0,09 %. Soros negativo e positivo, com títulos alto, médio e baixo, foram incluídos para controle do teste. As amostras foram incubadas a 37 °C por 48 h e a leitura realizada utilizando luz indireta. Foi considerado título positivo a maior diluição de soro capaz de aglutinar a suspensão de antígeno no SAT e 2-ME.

Resultados e Discussão

Fizeram parte deste estudo 12 médicos veterinários, os quais rotineiramente realizam atividade de vacinação para brucelose bovina no município de Rio Grande, RS. Dos profissionais participantes, 3 entrevistados relataram acidentes e contato com o antígeno vacinal ao realizar a aplicação da vacina em rebanhos.

A prevalência de reações dos soros testados foi de 25 % (3/12) no teste de aglutinação rápida AAT. Dos 3 soros reagentes no AAT, 2 foram reagentes no teste padrão SAT, com títulos de 50 e 100 e 1 não reagente. Os títulos de anticorpos encontrado no SAT evidenciam a exposição ao antígeno específico de *B. abortus* em dois soros testados. Os títulos encontrados assim como a reatividade no AAT podem ser interpretados como infecção por *Brucella* (CHERNYSHEVA *et al.*, 1980) e a avaliação clínica e tratamento são indicados (ACHA e SZYFRES, 2003) assim como a repetição do teste para identificar a diminuição ou aumento do título de anticorpos, já que o período de incubação da bactéria pode variar de uma semana a vários meses (POESTER *et al.*, 2002).

No teste do 2-ME não foi identificada aglutinação naqueles soros reagentes no SAT, portanto os anticorpos aglutinantes encontrados são, em maior concentração da classe IgM, o que indica a infecção recente pelo antígeno vacinal (BUTLER *et al.*, 1981). Embora não tenham sido relatados sintomas de brucelose na população estudada, sabe-se que os sintomas em humanos são amenos quando comparados a doença causada pelas espécies de *B. suis* e *B. melitensis* (BRASIL, 2006) e o acompanhamento clínico e laboratorial é indicado para prevenção de casos clínicos graves.

Conclusão

As profissões consideradas como de risco para infecção por *Brucella* foram relatadas por diversos autores. Porém, a adesão destes profissionais ao uso de equipamentos de proteção individual (EPIs) é, muitas vezes, negligenciada. Este trabalho evidencia a importância do treinamento continuado de profissionais para uso de EPIs como forma de evitar a ocorrência de acidentes vacinais ou ainda na prática de outros atendimentos realizados por profissionais médicos veterinários.

Referencias Bibliográficas

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. 3.ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2001. p.28-56.

BRASIL – 2006. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Defesa Animal. Manual Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose – PNCEBT, 2006. 188p.

BUTLER, J.E.; SEAWRIGHT, G.I.; MCGIVERN, P.L.; GILSDROF, M. Class and subclass antibody response of *B. abortus* strain 19-vaccinated and field-strain-challenged cattle: evidence for a predominant IgG 1 response in infected animals. **Advance Experimental Medical Biology**, v.137, p.790-791, 1981.

CHERNYSHEVA, M.I., GUBINA, E.A., ZHELUDKO, V.M.M., PEREKOPSKAIA, T.I. Use of acidic rose bengal antigen in the plate agglutination test for brucellosis in human. **Microbiology Epidemiology Immunology**, v.6, p. 84–88, 1980.

GÓMEZ, M.C., NIETO, J.A., ROSA, C., GEIJO, P., ESCRIBANO, M.A., MUNOZ, A., LÓPEZ, C. Evaluation of Seven Tests for Diagnosis of Human Brucellosis in an Area Where the Disease Is Endemic. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.15, n. 6, p. 1031–1033, 2008.

LUCERO, N.E., FOGLIA, L. AYALA, S.M., GALL, D., NIELSEN, K. Competitive Enzyme Immunoassay for Diagnosis of Human Brucellosis. **Journal of Clinical Microbiology**, n.8, p. 3245–3248, 1999.

MITKA, S., ANETAKIS, C., SOULIOU, E., DIZA, E., KANSOUZIDOU, A. Evaluation of Different PCR Assays for Early Detection of Acute and Relapsing Brucellosis in Humans in Comparison with Conventional Methods. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n.4, p. 1211–1218, 2007.

NIELSEN, K.; GALL, D.; LIN, M.; MASSANGILL, C.; SAMARTINO, L.; PEREZ, B.; COATS, M.; HENNAGER, S.; DAJER, A.; NICOLETTI, P.; THOMAS, F. Diagnosis of bovine brucellosis using a homogeneous fluorescence polarization assay. **Veterinary Immunology Immunopathology**, n.66, p.321-329, 1998.

PAULIN, L.M. Brucelose. *Arquivos do Instituto Biologico*, v.70, n.2, p.239-249, 2003.

POESTER, F.P.; GONÇALVES, V.S. P.; LAGE, A.P. Brucellosis in Brazil. **Veterinary Microbiology**, 90, p. 55-62, 2002.