

PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-BRUCELA EM ANIMAIS DE TRAÇÃO ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

STARK, C. B.^{1*}; AMARAL, L. A².; HENTGES, A¹.; JORGE, S¹.; MARTINS, P. L¹.; BANDEIRA, F. S¹.; FERNANDES, C. P. H¹.; NOGUEIRA, C. E. W².; BROD, C. S.¹ RECUERO, A. L.C¹.

RESUMO

A brucelose é uma doença de grande importância na saúde pública e na pecuária, devido às perdas econômicas causadas por abortos, infertilidade e diminuição da produção de carne e leite, além de constituir um risco as pessoas expostas direta ou indiretamente às fontes de infecção. O diagnóstico da brucelose é realizado através da identificação direta da bactéria *Brucella* ou indiretamente pela detecção de anticorpos em soro de animais e humanos infectados. 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 e teste de polarização da fluorescência. O presente trabalho teve por objetivo, através do teste do antígeno acidificado tamponado (AAT), sorologia lenta em tubos (SAT) e 2-Mercaptoetanol (2-ME), identificar anticorpos anti *Brucella abortus* em eqüinos utilizados para tração, provenientes das áreas de influência da região de Pelotas (RS), atendidos no projeto “charreteiros” desenvolvido pelo Hospital Veterinário da Universidade Federal de Pelotas (HCV/UFPEL). Dos 28 eqüinos testados, um apresentou reação positiva em um dos testes realizados (AAT), sendo que o mesmo não foi ratificado nos testes confirmatórios (SAT e 2-ME). Apesar da baixa prevalência encontrada na população estudada, os resultados não descartam a necessidade de vigilância epidemiológica na população eqüina de tração para esta zoonose.

1-Centro de Controle de Zoonoses – Faculdade de Veterinária/UFPel Campus Universitário, Caixa Postal 354 – CEP 96010-900 cledirstark@hotmail.com

2- Hospital de Clínica Veterinária - Faculdade de Veterinária/UFPel Campus Universitário.

INTRODUÇÃO

A brucelose é uma doença infecto-contagiosa, de evolução crônica e de caráter granulomatoso típico, provocada por bactérias do gênero *Brucella* que acomete principalmente os sistemas reprodutivos e ósteo-articular de bovinos, suínos, ovinos, caprinos, cães, eqüinos e homem (ACHA, SZYFRES, 2003). Esta zoonose possui distribuição universal e acarreta problemas sanitários importantes e prejuízos econômicos vultuosos (BRASIL, 2006).

O diagnóstico da brucelose é realizado através do isolamento da *Brucella* ou pela detecção de anticorpos em soro de animais e humanos infectados (ACHA, 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 (ALTON, JONES, PIETZ, 1976), entre eles o teste de aglutinação macroscópica utilizando antígeno acidificado tamponado (AAT), testes imunoenzimáticos, de fixação de complemento (ALTON, MAW, ROGERSON, 1975), Coombs indireto (PAULIN, 2003) e teste de polarização da fluorescência (NIELSEN *et al.*, 1998).

Os estudos para detectar anticorpos anti *Brucella* em equinos buscam caracterizar esta espécie como possível reservatório da doença para bovinos, humanos e outras espécies animais (BENDTSEN, CHRISTIANSEN, THOMSEN, 1954). Ainda que o mecanismo de transmissão da brucelose eqüina não esteja bem esclarecido, considera-se que a infecção seja favorecida pela coabitação com outras espécies domésticas (DOBREAN, OPRIS, DARABAN, 2002). A transmissão da doença está associada à ingestão de água e alimentos contaminados por descargas vaginais, restos de aborto e de placenta, principalmente das espécies bovina e suína (LANGENEGGER, SZECHY, 1961).

Na espécie eqüina a brucelose manifesta-se sob a forma de lesões articulares crônicas e, raramente, por abortamentos (DENNY, 1973). As lesões mais sugestivas da doença são representadas por inflamações em ligamentos (VASCONCELLOS *et al.*, 1987), como bursites cervicais, nuais e interescapulares, popularmente denominadas "mal da cernelha", "mal da cruz", "mal da nuca" ou "abscesso de cernelha".

O tempo transcorrido entre a exposição ao agente infeccioso e o aparecimento dos sintomas pode ser de poucas semanas até meses ou anos (NILSEN, 2002; BRASIL, 2006).

O objetivo deste trabalho foi de identificar anticorpos anti *Brucella abortus* na população de eqüinos de tração, atendidos no ambulatório do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Pelotas (HCV/UFPEL).

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras de soros

Foram analisadas 28 amostras de soro sangüíneo de eqüinos pertencentes a carroceiros, provenientes das áreas de influencia da região de Pelotas (RS), atendidos no projeto “charreteiros” desenvolvido no HCV/UFPEL. Os soros foram obtidos por centrifugação a 3.000 rpm, após a coleta de sangue na rotina de atendimento do HCV e estocadas 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 controles, 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

Dos 28 soros eqüinos testados, um apresentou reação positiva no teste AAT não confirmada no SAT e 2-ME. Resultados falsos positivos no AAT podem ocorrer devido a reações com outros antígenos bacterianos, principalmente de *Escherichia coli* O: 157:H7 e *Yersinia enterocolitica* 0:9 (NILSEN, 2002; PAULIN, 2003) ocorrendo dessa forma, reação cruzada no teste. Nos demais 27 soros testados, não foram detectados anticorpos reagentes para *B. abortus*. Contudo, o baixo percentual de reatividade na população estudada não descarta a

necessidade de vigilância epidemiológica na população equina de tração para esta zoonose.

CONCLUSÃO

Os eqüinos de tração utilizados nas cidades pelos “charreteiros” são possíveis fontes de infecção para a brucelose humana, sendo sugerido o acompanhamento sorológico da população na rotina de diagnóstico do HCV/UFPEL. Ainda, o diagnóstico laboratorial possibilita a confirmação do diagnóstico clínico e o tratamento adequado destes animais.

REFERÊNCIAS 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

ALTON, G.G.; JONES, L.M.; PIETZ, D.E. *Las técnicas de laboratorios en la brucelosis*. 2.ed. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1976. p.68-133.

ALTON, G.G.; MAW, J.; ROGERSON, B.A. et al. Serological diagnosis of bovine brucellosis: an evaluation of the complement fixation, serum agglutination and Rose Bengal tests. *Austr.Vet. J.*, v.51, p.57-63, 1975.

BENDTSEN, H.; CHRISTIANSEN, M.; THOMSEN, A. *Brucella* enzooties in swine herds in Denmark presumably with hare as source of infection. *Nord. Vet. Med.* 6:11, 1954.

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, 188p.

DENNY, H.R. A review of brucellosis in the horse. *Equine Vet.*, J. 5: 121 – 125., 1973.

DOBREAN, V.; OPRIS, A.; DARABAN, S. An epidemiological and surveillance overview of brucellosis in Romania. *Vet. Microbiol*, v.90, n.4, 157-163, 2002.

GÓMEZ, M.C., NIETO, J.A., ROSA, C., GEIJO, P., ESCRIBANO, M.A., MUNÓZ, A., LÓPEZ, C. Evaluation of seven tests for diagnosis of human brucellosis in an area where the disease is endemic. *Clin. Vac. Immun.*, v.15, n. 6, p. 1031–1033, 2008.

LANGENEGGER, J.; SZECHY, A.M. Brucelose dos equídeos domésticos - isolamento de *Brucella abortus* de bursites de cernelha no Brasil. *Arq. Inst. Biol. Anim.*, v.4, p. 49-63, 1961.

NILSEN, K. Diagnosis of brucellosis by serology. *Vet. Microbiol*, v.90, n.4, 447-459, 2002.

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

VASCONCELLOS, S.A.; ITO, F.H.; CÔRTEZ, J.A. Bases para a prevenção da brucelose animal. *Comum. Cient. Fac. Med. Vet. Zootec. USP*, v.1, p.25-36, 1987.