

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

MONOGRAFIA

**Soroprevalência de Brucelose em bovinos abatidos no Matadouro Público de
Patos, Estado da Paraíba**

Janayra Magalhães Leite

2008





**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

MONOGRAFIA

**Soroprevalência de brucelose em bovinos abatidos no Matadouro Público de
Patos, Estado da Paraíba**

**Janayra Magalhães Leite
Graduanda**

**Dr. Sérgio Santos de Azevedo
Orientador**

**Patos
Abril de 2008**



Biblioteca Setorial do CDSA. Maio de 2022.

Sumé - PB

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO
CAMPUS DE PATOS - UFCG

L533s
2008

Leite, Janayra Magalhães.

Soroprevalência de Brucelose em bovinos abatidos no
Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba/ Janayra Magalhães
Leite. - Patos - PB: CSTR/UFCG, 2008.

35p.

Orientador (a): Sérgio Santos de Azevedo.

Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Centro de
Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina
Grande.

1 - Saúde Pública - Monografia 2 - Brucelose - bovinos -
Monografia. I - Título.

CDU: 614

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**Janayra Magalhães Leite
Graduanda**

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Medico Veterinário.

APROVADA EM/...../.....

Assinatura



Dr. Sérgio Santos de Azevedo



Dr. Albérico Antônio de Barros Gomes



Dr. Francisco de Assis Leandro Alves

Dedico este trabalho:

*Aos meus pais, Mazinho e Elzimar, pela
força, incentivo e exemplos de humildade e
honestidade que sempre procurei seguir
nesta caminhada.*

*Às minhas queridas irmãs, Jossuely, Joana,
Juliana e Jamile, pelo companheirismo e
compreensão.*

*À minha sobrinha-afilhada Thaís, pelo seu
abraço e seu imenso sorriso sempre
presente na minha volta ao lar.*

AGRADEÇO

A Deus, sempre presente na minha vida, evidenciando o melhor caminho a seguir, me levantando nos tropeços e fortalecendo-me com meus erros;

Aos meus amigos, Aécio, Demerval, Gustavo, Lolô, Milena e Rodrigo, pela confiança e dedicação nesses anos. Hoje nos tornamos mais que amigos, somos irmãos de coração;

Aos meus tios, avós e primos. Em especial minhas primas Michael e Kelly, que sempre torceram pela minha vitória;

Aos meus padrinhos, Lucimar e Paulo Cardoso pela confiança desdida aos meus objetivos traçados;

Ao meu amigo Nereu, pelos conselhos e carinho que foram essenciais nesta caminhada;

Ao Professor Sérgio Santos pela orientação e paciência durante a realização deste trabalho. Obrigada pelo exemplo de garra e dedicação, pelos ensinamentos e por proporcionar a realização deste sonho;

Aos professores Albério e Leandro, componentes da banca examinadora, por terem aceitado o convite e sempre estarem dispostos a dividir seus valiosos conhecimentos;

Aos novos amigos conquistados no decorrer do curso, em especial Fabíola, Nadjanara e Gyslliana;

À Coordenação de Medicina Veterinária, na pessoa da Professora Verônica, e em especial a Tereza, pela disposição em sempre nos atender;

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para que este sonho pudesse se realizar da forma mais maravilhosa possível.

“Meus sonhos, tão questionados, porém tão visivelmente reais aos meus olhos, tornam-se hoje a mais pura realidade. Num caminho de luta constante, onde um passado parecia mostrar um destino sem futuro, eis que me coloco como exemplo maior de que a desistência é a desculpa dos fracos e a persistência é muito mais que uma arma dos fortes, é um sinal da fé que carregamos em nossos corações”.

Gláucio Coelho

SUMÁRIO

	Pág..
LISTA DE TABELAS.....	07
RESUMO.....	08
ABSTRACT.....	09
1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1. Agente Etiológico.....	12
2.2. Hospedeiros.....	12
2.3. Patogenia.....	13
2.4. Sinais Clínicos.....	15
2.5. Diagnóstico.....	15
2.6. Transmissão.....	17
2.7. Controle.....	18
2.8. Importância em Saúde Pública.....	20
3. OBJETIVOS.....	21
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1. Animais.....	22
4.2. Amostragem.....	22
4.3. Colheita de sangue.....	22
4.4. Diagnóstico Sorológico.....	23
4.4.1 Prova do Antígeno Acidificado Tamponado.....	24
4.4.1.1 Materiais utilizados.....	24
4.4.1.2 Metodologia do teste.....	24
4.4.2 Prova do 2-Mercaptoetanol e Soroaglutinação lenta em tubos.....	25
4.4.2.1 Materiais utilizados.....	25
4.4.2.2 Metodologia do teste.....	25
4.5. Análise Estatística.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
6. CONCLUSÃO.....	31
7. REFERÊNCIAS.....	32

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 - Interpretação das provas do 2-ME para fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses, vacinadas entre três e oito meses de idade.....	23
Tabela 2 - Interpretação das provas do 2-ME para fêmeas não vacinadas e machos, com idade igual ou superior a 8 meses.....	24
Tabela 3 - Soroprevalência e Intervalo de confiança de 95%, nos testes de Antígeno Acidificado Tamponado e 2-Mercaptoetanol com relação ao sexo, em bovinos abatidos no Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba, no período de setembro a dezembro de 2007. Patos-PB, 2008.....	29
Tabela 4 - Títulos de anticorpos anti- <i>B. abortus</i> , pelas provas de Soroaglutinação Lenta em Tubos e do 2-Mercaptoetanol, nas amostras positivas no teste de triagem, em bovinos abatidos no Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba, no período de setembro a dezembro de 2007. Patos - PB, 2008.....	29

RESUMO

LEITE, JANAYRA MAGALHÃES. **Soroprevalência de Brucelose em bovinos abatidos no Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba** [Soroprevalence of brucellosis in bovine slaughtered in the Public Slaughterhouse of Patos city, state of Paraíba]. 2008 35 p. Monografia (Conclusão do curso de Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Patos, 2008.

Foi determinada a soroprevalência de brucelose em bovinos abatidos no Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba, bem como verificada uma possível associação entre sexo dos animais e soropositividade para *Brucella abortus*. Para tanto, foram colhidas 274 amostras de soro no período de setembro a dezembro de 2007. Para o diagnóstico sorológico da brucelose bovina, foi utilizado o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) como prova de triagem e o teste do 2-mercaptoetanol como prova confirmatória. Na prova do Antígeno Acidificado Tamponado, dos 274 bovinos analisados, seis foram soropositivos (2,2%; IC 95% = 0,81% - 4,71%). Dos 103 bovinos machos, um (0,97%; IC 95% = 0,02% - 5,29%) foi soropositivo, enquanto cinco (2,92%; IC 95% = 0,96% - 6,69) das 171 fêmeas foram soropositivas. Não foi verificada diferença significativa na proporção de soropositivos entre bovinos machos e fêmeas ($p = 0,41$). Na prova do 2-mercaptoetanol, das seis amostras reagentes no AAT, cinco (83,3%) foram confirmadas como positivas. Todas as amostras positivas no 2-ME foram de fêmeas, resultando em uma soroprevalência de 1,82% (IC 95% = 0,59% - 4,21%). Também não foi verificada diferença significativa na proporção de soropositivos entre bovinos machos e fêmeas no teste confirmatório ($p = 0,16$).

Palavras-chave: Brucelose animal, soroprevalência, bovinos, Matadouro Público de Patos – Estado da Paraíba.

ABSTRACT

LEITE, JANAYRA MAGALHÃES. **Seroprevalence of brucellosis in bovine slaughtered in the Public Slaughterhouse of Patos city, state of Paraíba** [Soroprevalência de Brucelose em bovinos abatidos no Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba]. 2008 35p. Monografia (Conclusão do curso de Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Patos, 2008.

The seroprevalence of brucellosis was determined in bovine slaughtered in the Public Slaughterhouse of Patos city, state of Paraíba, Northeast region of Brazil. For this purpose, 274 blood samples were collected during September to December 2007. For the serological diagnosis of bovine brucellosis, the Rose Bengal Test was applied as a screening method and the 2-mercaptoetanol test as a confirmatory method. In the Rose Bengal Test, of the 274 analyzed bovine, six were seropositive (2.2%; 95% CI = 0.81% - 4.71%). One (0.97%; 95% CI = 0.02% - 5.29%) of the 103 male bovine was seropositive and five (2.92%; 95% CI = 0.96% - 6.69) of the 171 females were seropositive. There was no significant difference between sex and seroprevalence ($p = 0.41$). In the 2-mercaptoetanol test, of the six reagent samples at the screening test five (83.3%) were confirmed as positive. All positive samples at the confirmatory test were from females, resulting in a seroprevalence of 1.82% (95% CI = 0.59% - 4.21%). There was also no significant difference in the proportion of seropositive animals between males and females in the confirmatory test ($p = 0.16$).

Key words: Animal brucellosis, seroprevalence, bovine, Public Slaughterhouse of Patos – Paraíba state.

1 INTRODUÇÃO

A brucelose bovina é uma doença bacteriana infectocontagiosa que pode ser transmitida ao ser humano, sendo considerada uma zoonose de evolução principalmente crônica e caracterizada por abortamentos no terço final da gestação. O principal agente etiológico é a *Brucella abortus*, cujo biótipo 1 é o mais freqüente (ACHA; SZYFRES, 1986). É conhecida em bovinos como mal de Bang, doença de Bang, aborto enzoótico ou epizoótico e ainda como aborto infeccioso dos bovinos. Já em humanos, é designada como febre de Malta, febre ondulante ou febre do Mediterrâneo.

Em bovinos, a brucelose provoca perdas diretas em decorrência de abortamentos, diminuição dos índices reprodutivos, aumento do intervalo entre partos, queda na produção de leite e carne, morte de bezerros, além da interrupção de linhagens genéticas. Estima-se que a infecção é responsável pela diminuição de 20 a 25% na produção de leite, 10 a 15% na produção de carne, 15% da perda de bezerros em decorrência de abortamentos, aumento de 30% na taxa de reposição de animais e aumento do intervalo entre partos de 11,5 para 20 meses. Mostram ainda que, em cada cinco vacas infectadas, uma aborta ou torna-se permanentemente estéril (RADOSTITS et al, 2002). Além disso, ainda estão envolvidas as restrições comerciais principalmente no mercado internacional, pois a brucelose faz parte da lista da OIE (Organização Mundial de Saúde Animal), sendo uma doença de notificação obrigatória e, portanto considerada de importância sócio-econômica e/ou de saúde pública, ocasionando impacto significativo no comércio internacional de animais e de seus subprodutos (OIE, 2005).

Dessa maneira, é de fundamental importância para um país a implantação de um programa eficaz de controle e erradicação da brucelose, tanto do ponto de vista comercial quanto no tocante a saúde pública.

No Brasil foi instituído em 2001 o Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e consiste em um conjunto de medidas sanitárias compulsórias, associadas a ações de adesão voluntária, com a finalidade de reduzir a prevalência e a incidência de novos focos de brucelose e tuberculose, bem como criar um número significativo de propriedades certificadas como livres dessas doenças, oferecendo ao consumidor produtos de baixo risco sanitário

(BRASIL, 2006). Para que esses objetivos sejam atingidos com sucesso é necessário que haja um esclarecimento e conscientização dos proprietários frente à importância da vacinação de bezerras entre 3 e 8 meses de idade contra brucelose, sendo este procedimento uma das prioridades do PNCEBT. De acordo com o MAPA, foram vacinadas 847 bezerras de janeiro a agosto de 2007 na Paraíba, sendo o índice de fêmeas vacinadas de 2,48% em relação ao número de fêmeas em idade vacinal, levando em consideração que o rebanho de fêmeas paraibano é de 500.000 cabeças (Comunicação pessoal, 2008¹). Em comparação com o Estado de Sergipe, onde a vacinação em 2007 atingiu mais de 15 mil bezerras, este índice paraibano ainda é muito pequeno, dificultando o sucesso do programa. Em Sergipe esse número foi alcançado em função do trabalho dos técnicos e médicos veterinários da Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe (Emdagro) (AGÊNCIA, 2008). Para reverter o quadro paraibano é necessário que haja uma mobilização dos Médicos Veterinários, pois a vacinação só poderá ser realizada sob a responsabilidade destes, os quais deverão estar cadastrados no serviço social de defesa sanitária animal do Estado, com o intuito de promover a vacinação em massa dos rebanhos, não ficando apenas destinados ao processo do diagnóstico. Outra medida compulsória no programa, além da vacinação, é o controle de trânsito, principalmente em animais destinados à reprodução, bem como para participações em exposições, feiras, leilões e outras aglomerações animais.

Tendo em vista a baixa cobertura vacinal da brucelose bovina no Estado da Paraíba em 2007 (2,48%) e o fato da evolução da doença ser preferencialmente crônica, com sinais clínicos restritos exclusivamente à esfera reprodutiva, tomando praticamente impossível a detecção de animais infectados no exame *ante-mortem* e *post-mortem*, os riscos de exposição ocupacional à bactéria durante o abate são aumentados. Dessa forma, o presente trabalho tem como meta a determinação da soroprevalência de brucelose em bovinos abatidos no matadouro público de Patos, Estado da Paraíba.

¹ ARRUDA "comunicação pessoal", 2008, SEDESA- MAPA-PB. BRASIL.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Agente Etiológico

As bactérias do gênero *Brucella* são pequenos cocobacilos, Gram negativos e imóveis, não formam esporos nem possuem cápsula. São divididas em lisas ou clássicas e rugosas; no grupo das lisas estão a *Brucella abortus*, *B. melitensis* e a *B. suis*, e fazendo parte do grupo das rugosas estão a *B. ovis* e a *B. canis* (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

Apesar de ser uma bactéria patogênica não esporulada, a brucela tem uma boa capacidade de sobrevivência em algumas condições naturais, como em locais úmidos, abrigados da luz solar direta, em pH neutro e ambiente contendo matéria orgânica (BRASIL, 2006). Há um aumento da viabilidade da bactéria em temperaturas baixas, podendo resistir por muito tempo em tecido congelado (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). As brucelas são sensíveis a alguns desinfetantes comuns, como produtos clorados ou soluções de formaldeídos. A pasteurização é um método eficiente de destruição da bactéria (BRASIL, 2006).

2.2 Hospedeiros

Os bovinos são mais susceptíveis a *B. abortus*, sendo esta susceptibilidade relacionada à idade, sexo e estágio reprodutivo do animal. Animais sexualmente maduros e fêmeas prenhes são mais sensíveis à infecção do que bovinos imaturos de qualquer sexo, portanto, pode-se afirmar que a brucelose está mais relacionada com a maturidade sexual do que com a idade (BRASIL, 2006).

Além dos bovinos, a *B. abortus* pode infectar outras espécies, tanto domésticas como silvestres (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). Com relação às espécies domésticas, podem ser infectados bubalinos, suínos, ovinos, caprinos, cães e eqüídeos. Este último hospedeiro parece ser menos susceptível à infecção e são tidos como hospedeiros terminais. O principal sinal observado nos eqüinos é uma lesão edematosa que posteriormente forma uma fistula na região da cernelha e por isso é conhecida como Mal da Cernelha ou Mal da Cruz (CEAPAV, 2008).

A transmissão da doença para suínos é infreqüente, e quando ocorre é caracterizada por uma infecção transitória, no entanto suínos infectados podem ser fontes de infecção para bovinos (NICOLETTI, 1980). É importante salientar que a *B. abortus* apresenta baixa patogenicidade para caprinos e ovinos, porém estudos mostram isolamento desta bactéria nesses animais (BANNATYNE, 1960). Já em cães, a infecção por *B. abortus* ocorre esporadicamente e geralmente é resultado do contato de animais da zona rural com produtos de origem animal contaminados ou até mesmo pela ingestão dos restos de abortos decorrentes de brucelose (FORBES, 1990). Em bubalinos, a brucelose apresenta-se com características semelhantes aos bovinos (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

Com relação às espécies silvestres, destacam-se aquelas unguladas, consideradas reservatórios naturais da *Brucella abortus*, desempenhando papel importante na epidemiologia da doença, pois são estes animais que mantêm o agente no meio ambiente (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

2.3 Patogenia

A porta de entrada mais importante para bovinos é a mucosa orofaríngea (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). A bactéria ainda pode adentrar através da mucosa genital, nasal ou conjuntiva. O período de incubação é inversamente proporcional ao tempo de gestação, ou seja, quanto mais adiantada a gestação, menor será o período de incubação (BRASIL, 2006). Ao penetrar no organismo as bactérias são fagocitadas por macrófagos e são transportadas livres ou dentro destes para os linfonodos regionais, onde se multiplicam e podem permanecer por semanas a meses. Ocorre disseminação por via linfática ou hemática para órgãos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, entre os quais se destacam os linfonodos, baço, fígado, aparelho reprodutor masculino, úbere e útero.

A infecção do útero gestante ocorre por via hematogênica. Ao adentrarem no útero, as brucelas multiplicam-se inicialmente no trofoblasto do placentoma, e logo após infectam as células adjacentes (BRASIL, 2006).

O eritritol é um álcool observado principalmente em bovídeos, com altas concentrações na placenta, líquidos fetais e órgãos reprodutivos masculinos como testículos, epidídimos e glândulas sexuais (SAMARTINO; ENRIGHT, 1992). Sabe-se que a partir do

quinto mês de gestação, aumenta a concentração desse álcool, o qual atinge nível máximo próximo ao parto, estimulando a multiplicação da bactéria de forma crescente. Além disso, a presença de hormônios sexuais também estimula o desenvolvimento da brucela (BISHOP et al., 1994).

Na fêmea bovina, a infecção deixa de ser latente geralmente no terço final da gestação, quando o tecido córion-alantoideano está bem desenvolvido e há disponibilidade dos metabólitos (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). Neste período a multiplicação da brucela é intensa e as endotoxinas liberadas após sua destruição geram lesões na placenta, causando placentite necrótica dos cotilédones, promovendo o deslocamento destes devido à lise de suas vilosidades (METCALF et al., 1994). Essas lesões inflamatórias e necróticas impedem a passagem de nutrientes e principalmente oxigênio da mãe para o feto, pois comprometem a circulação materno-fetal, provocando uma infecção maciça culminando no abortamento (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). Em casos agudos, quanto mais intensa a necrose, maior a possibilidade de haver abortamento, sendo este o único sintoma aparente na maioria das infecções brucélicas (CARTER; CHANGAPPA, 1991).

O útero não grávidico não é tão susceptível a *B. abortus*, portanto logo após o abortamento ou o parto as brucelas desaparecem rapidamente e o animal recupera-se em poucas semanas (BISHOP et al., 1994). Porém, quanto menor a necrose, mais intensa será a deposição de fibrina tornando tardio o abortamento ou até mesmo promovendo o nascimento de bezerros fracos que poderão morrer em poucos dias (ACHA; SZYFRES, 1986). Após o primeiro aborto, há desenvolvimento de uma imunidade celular e conseqüente diminuição do número e tamanho das lesões de placentomas nas gestações subseqüentes. Dessa forma, o aborto torna-se infreqüente, aparecendo outras manifestações, como subinfertilidade, infertilidade e esterilidade (TIMONEY et al., 1988).

Nos machos, a bactéria se localiza preferencialmente nos órgãos do sistema reprodutor, tais como testículos, epidídimos e glândulas sexuais, ocasionando inflamação destes e posterior cronicidade da infecção, tornando esses animais assintomáticos (BRASIL, 2006).

2.4 Sinais Clínicos

O sinal clínico característico da brucelose é o abortamento em torno do sétimo mês de gestação ou nascimento de crias fracas ou mortas (RIET-CORREA et al., 2001).

Ao ser introduzida num rebanho de animais susceptíveis, num primeiro momento os abortamentos poderão chegar a 80% (BISHOP et al., 1994), tendo recidivas de 15 a 20% dos casos (ACHA; SZYFRES, 1986). Passada essa primeira fase, sobrevêm a fase conhecida como crônica, onde os abortamentos tornam-se raros em decorrência da imunidade celular (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

Nos machos, a brucela acarreta orquite e epididimite bem como inflamação de caráter necrosante das vesículas seminais. Há um aumento de volume dos epidídimos e testículos uni ou bilateral, provocando subfertilidade, infertilidade ou esterilidade (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). Como consequência ocorre necrose do órgão afetado, podendo haver atrofia.

A brucela pode atingir o aparelho locomotor provocando infecções articulares, levando a bursites principalmente nas articulações cárpicas e társicas, as quais exigem maiores esforços, além de espondilites nas vértebras torácicas e lombares, podendo atingir a medula óssea e bainha dos tendões (BATHKE, 1988).

As vacas prenhes são mais susceptíveis à doença e a grande maioria delas permanecerá cronicamente infectada, com o agente presente no útero e linfonodos (BISHOP, et al. 1994). Porém, fêmeas não gestantes expostas a quantidades pequenas de brucelas podem desenvolver a condição de portadoras assintomáticas (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

2.5 Diagnóstico

O diagnóstico da brucelose é feito por diferentes métodos, os quais se complementam; entre eles destacam-se o diagnóstico clínico, que se baseia nos sinais; o diagnóstico epidemiológico, que se fundamenta no histórico do rebanho e da propriedade vizinha; e o diagnóstico complementar que pode ser direto ou indireto (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

Para o diagnóstico populacional são adequadas somente as provas sorológicas (BRASIL, 2006) que consistem na detecção de anticorpos contra *B. abortus* por métodos indiretos.

O diagnóstico indireto deve ser rápido, barato e de fácil realização, pois se trata de um procedimento de aplicação massal. Além disso, deve ser desprovido de riscos e respeitar as normas técnicas estabelecidas pelos organismos internacionais (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). Os métodos indiretos ou sorológicos têm como finalidade demonstrar a presença de anticorpos contra *Brucella* sp. em vários fluidos corporais, como soro sanguíneo, leite, muco vaginal e sêmen (BRASIL, 2006). Existem vários testes, porém os de real utilidade são aqueles que buscam detectar anticorpos no soro e no leite (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). Podem ocorrer reações falso-negativas ou falso-positivas.

As reações falso-positivas são decorrentes de reações cruzadas com outras bactérias, principalmente *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*, designada como reação cruzada, que na maioria das vezes estão associadas a IgM (CORBEL, 1985). Animais de até no máximo quatro meses de idade podem apresentar anticorpos colostrais, levando a uma sorologia positiva (BISHOP et al., 1994). Além disso, podem ocorrer como resultado da vacinação com B19 em animais acima de 8 meses de idade (BRASIL, 2006), pois quanto maior a idade no momento da vacinação mais tardiamente desaparecem os anticorpos vacinais (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

As principais causas de resultados falso-negativos são: a infecção recente e a proximidade do parto ou aborto. Fêmeas em fase próxima ao parto ou logo após abortamento podem apresentar resultados falso-negativos ou títulos baixos de anticorpos, embora sejam excretoras do agente (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). Brandon et al. (1971) relatam que esse fato é decorrente do mecanismo fisiológico de transferência, principalmente da IgG1, do soro para o colostro, o que leva a diminuição de anticorpos no soro, não sendo suficientes para propiciar sinal no teste sorológico.

Dentre os métodos indiretos mais utilizados para diagnóstico de brucelose, destacam-se a Soroaglutinação Lenta em Tubos, Soroaglutinação Rápida em Placa, Teste do Antígeno Acidificado Tamponado ou Rosa de Bengala, Reação de Fixação de Complemento, usado para referência de trânsito internacional, Teste do 2-Mercaptoetanol, Testes imunoenzimáticos

(ELISA) e Prova do Anel em Leite, usado para vigilância epidemiológica. (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

Dentre os métodos diretos estão o isolamento e a identificação do agente, imunohistoquímica e métodos de detecção de ácido nucléicos, como a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

A escolha dos métodos sorológicos deve levar em consideração o custo, o tamanho e as características da população sob vigilância, a situação epidemiológica da doença, a sensibilidade e a especificidade dos testes, bem como a utilização de vacinas (BRASIL, 2006).

No Brasil, o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) instituído pelo MAPA em 2001 definiu como oficiais os testes de Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e o Teste do Anel em Leite (TAL) como testes de triagem, sendo o TAL mais usado para monitorar rebanhos leiteiros. O 2-Mercaptoetanol (2-ME) e o Teste de Fixação de Complemento (FC) como testes confirmatórios (BRASIL, 2006).

2.6 Transmissão

Ao ser introduzido numa população de susceptíveis, o agente dissemina-se rapidamente no início e depois mais lentamente até atingir o equilíbrio, que é observado quando a quantidade de animais infectados descartados é igual a quantidade de susceptíveis que se infectam. Caso não seja erradicada, pode torna-se endêmica por tempo indeterminado (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). A não detecção de um animal infectado promove a disseminação tanto na propriedade como em áreas adjacentes (BATHKE, 1988).

As principais vias de eliminação do agente são os fetos, seus envoltórios e descargas uterinas, seja no momento do parto ou em situações de abortamentos. Devido à grande quantidade de bactérias nesses materiais, ocorre a contaminação da pastagem, fômites, água e alimentos. No leite, a brucela é eliminada a partir de duas semanas após o parto ou abortamento, podendo persistir durante meses (ACHA; SZYFRES, 1986). Ao ingerirem leite contaminado, os bezerros poderão manter a bactéria nos linfonodos gastroentéricos e excretar o agente nas fezes. Até seis meses de idade os bezerros são pouco susceptíveis à infecção e normalmente infectam-se de forma transitória, e seis a oito semanas após a suspensão da alimentação com leite tornam-se livres (ACHA; SZYFRES, 1986).

Em condições de umidade, temperatura e sombreamento ideais, as brucelas permanecem viáveis no meio ambiente por longos períodos, o que aumenta significativamente a chance de contato e infecção de hospedeiros susceptíveis (QUINN et al., 2005).

O contato indireto, por ingestão de água, pasto ou forragens contaminadas, é a mais freqüente via de transmissão entre os bovinos. Além disso, outra via de transmissão é o contato direto entre as vacas, pois estas costumam lambe membranas fetais, fetos abortados e bezerros recém-nascidos. As vacas, ao lamberem os órgãos genitais de outras vacas possibilitam também a transmissão da doença (ACHA; SZYFRES, 1986).

Os touros eliminam a bactéria através do sêmen, o que não ocorre em novilhos e animais castrados (BATHKE, 1988). É importante ressaltar que a monta natural parece não ter grande importância na transmissão da brucelose, pois nesse caso o sêmen é depositado na vagina, onde existem defesas inespecíficas que dificultam o processo de infecção (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). Porém, na inseminação artificial o sêmen é introduzido diretamente no útero, permitindo a infecção da fêmea, sendo dessa forma, uma importante via de transmissão (BRASIL, 2006). Ronald e Prabhakar (2001), em Tamil Nadu, Índia, isolaram *B. abortus* em cinco (3,7%) de um total de 136 amostras de sêmen congeladas provenientes de três centros de inseminação artificial. Com relação à transferência de embriões, fica descartada a hipótese de transmissão da brucelose entre doadoras infectadas e receptoras livres da doença, isso porque os embriões são submetidos a lavagens e tratamentos para redução da transmissão de agentes infecciosos (BRASIL, 2006).

2.7 Controle

Na maioria dos países desenvolvidos a brucelose está controlada ou erradicada, mas nos países em desenvolvimento a doença ainda se apresenta de forma endêmica (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). Isso ocorre devido a falta de investimento em programas para o seu combate, além disso, observa-se que nesses locais a incidência aumenta a medida que aumenta os rebanhos (OIE, 2005).

Em propriedades onde ocorre a doença é recomendada a realização de testes sorológicos massais de rotina, em intervalos regulares entre dois e seis meses, e sacrifício subsequente dos animais positivos até a obtenção de, no mínimo, dois testes negativos

sucessivos em todo o rebanho. Nesse momento a propriedade é considerada saneada e deve manter essa situação com a realização de testes sorológicos em intervalos de um ou dois anos (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

É de fundamental importância a vacinação de bezerras com idade entre três e oito meses, principalmente em áreas endêmicas (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). Em áreas onde a prevalência é muito baixa, pode-se erradicar a doença com base no diagnóstico e sacrifício dos positivos, combinado com um sistema de vigilância eficiente (ACHA; SZYFRES, 1986).

A introdução de animais é o clássico fator de risco para brucelose bovina (NICOLETTI, 1980), portanto deve-se promover um rigoroso controle de trânsito visando a identificação dos animais positivos antes que estes adentrem na região alvo do programa (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

No Brasil, o Decreto Lei nº 6922, de quatro de outubro de 1944 foi a primeira tentativa de controle da brucelose bovina que estabelecia a identificação de animais vacinados (GARCÍA-CARRILLO, 1987). Posteriormente, outros Decretos foram criados, mas sem provocar grandes progressos no controle da brucelose (POESTER et al., 2002).

Em 20 de janeiro de 1976 foi instituída a Portaria nº 23 pelo Ministério da Agricultura, propondo um Programa Nacional, tendo como principal estratégia a vacinação das fêmeas entre 3 e 8 meses de idade, além da identificação de focos, teste e sacrifício voluntário dos positivos (POSTER et al., 2002). Mesmo assim, ainda não houve a implementação total do programa e, portanto a situação epidemiológica permaneceu a mesma com prevalência elevada da doença na maioria das regiões produtoras (AZEVEDO, 2006).

Em 2001 o MAPA instituiu o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), que visa promover a qualidade dos produtos de origem animal, além de melhorar a imagem do país no mercado externo, através de medidas compulsórias e voluntárias. Esse programa tem como base a vacinação para brucelose das fêmeas com idade entre três e oito meses (BRASIL, 2006). Consiste num programa cujos resultados surgirão em longo prazo, e para que isto ocorra é necessária a mobilização nacional de médicos veterinários e produtores.

2.8 Importância em Saúde Pública

A brucelose ocorre em diversos países do mundo, principalmente em países em desenvolvimento (BRASIL, 2006). Consiste em um grave problema de saúde pública, sendo transmitida para seres humanos a partir de animais infectados através do consumo de leite cru ou derivados não pasteurizados, mas principalmente por exposição ocupacional de magarefes, fazendeiros, pessoas que trabalham com laticínios e médicos veterinários que manipulam ou que possam ter contato com os microorganismos (OSORIO et al, 2004).

Em seres humanos, o período de incubação da brucelose varia de uma a cinco semanas, podendo estender-se por meses. Pode apresentar-se na forma aguda ou crônica. A fase aguda é caracterizada por febre intermitente e contínua, dores musculares e abdominais, artrite e cefaléia; já na fase crônica observa-se irritabilidade e depressão, podendo haver complicações como endocardite, miocardite, pericardite, meningite, hepatite e abscessos viscerais (AZEVEDO, 2006).

Em 1972, Spinola & Costa constataram a presença de trabalhadores de um frigorífico em Salvador, Bahia, acometidos por brucelose. Neste frigorífico existiam 128 empregados; destes, 85 foram submetidos à sorologia, dos quais nove (10,58%) foram soropositivos.

Costa-Dias et al (2005) relatam seis casos positivos para brucelose em seres humanos no período de 2002 a 2004 num frigorífico de inspeção federal no sul da Bahia, o que representou uma prevalência de 2,5%. O referido autor ainda correlaciona esse resultado com a frequência de bovinos sugestivamente positivos e com a ausência de medidas de segurança.

3 OBJETIVOS

- Determinar a soroprevalência de brucelose em bovinos abatidos no matadouro público de Patos, Estado da Paraíba.
- Verificar uma possível associação entre o sexo dos animais e a soropositividade para brucelose.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados bovinos abatidos no matadouro público de Patos, Estado da Paraíba, no período de setembro a dezembro de 2007.

4.2 Amostragem

Para o cálculo do número de animais a serem utilizados, foram considerados os seguintes parâmetros: (a) prevalência esperada; (b) erro absoluto; e (c) nível de confiança. O cálculo foi feito com a fórmula para amostras simples aleatórias (THRUSFIELD, 1995):

$$n = \frac{Z^2 \times p(1-p)}{d^2}$$

onde:

$Z = 1,96$ (nível de confiança de 95%)

$p =$ prevalência esperada de 50% (maximização de amostra)

$d =$ erro absoluto de 6%

O número de animais a serem utilizados foi de 267. Por motivo de segurança, foi colhido sangue de 274 animais, totalizando 103 machos e 171 fêmeas

4.3 Colheita de sangue

O sangue foi colhido em tubos de ensaio no momento da sangria, realizada com o animal em decúbito lateral esquerdo ou direito, logo após a insensibilização. Em seguida as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em

Patos, PB, onde foram centrifugadas com retração do coágulo e obtenção do soro. Os soros sangüíneos dos animais foram estocados em microtubos de polipropileno (tipo Eppendorf) previamente identificados e mantidos congelados a -20°C até o momento da realização das provas sorológicas.

4.4 Diagnóstico Sorológico

O teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) foi utilizado como prova de triagem e os soros que reagiram positivamente no mesmo foram submetidos à prova confirmatória do 2-mercaptoetanol (2-ME) (OSORIO, 2004). Paralelamente ao teste do 2-ME, foi realizado o teste de Soroaglutinação Lenta em Tubos (SLT). A interpretação do teste do 2-ME é apresentada nas Tabelas 1 e 2 (BRASIL, 2006).

Tabela 1. Interpretação das provas do 2-ME para fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses, vacinadas entre três e oito meses de idade.

Prova de soroaglutinação lenta (UI*/ml)	Prova do 2-ME (UI/ml)	Interpretação
≤ 50	< 25	Negativo
≥ 100	< 25	Inconclusivo
≥ 25	≥ 25	Positivo

* UI – Unidade Internacional

Tabela 2. Interpretação das provas do 2-ME para fêmeas não vacinadas e machos, com idade igual ou superior a 8 meses.

Prova de soroaglutinação lenta (UI*/ml)	Prova do 2-ME (UI/ml)	Interpretação
≤ 25	< 25	Negativo
≥ 50	< 25	Inconclusivo
≥ 25	≥ 25	Positivo

* UI – Unidade Internacional

4.4.1 Prova do Antígeno Acidificado Tamponado

4.4.1.1 Materiais utilizados

Os materiais usados foram: antígeno para AAT, que consiste numa suspensão de *B. abortus* amostra 1119-3 inativada, corado pelo rosa de bengala e diluída a 8% em solução-tampão de pH ácido (3,65); soro sanguíneo; micropipetador de 30 microlitros; ponteiras; placas com delimitações de 4 cm; misturadores de plástico; caixa com luz indireta.

4.4.1.2 Metodologia do teste

- Os soros e o antígeno foram equilibrados à temperatura ambiente por 30 minutos. Os soros foram homogeneizados antes da realização da prova.
- Foi utilizado o micropipetador de 30 µl para dispensar essa quantidade de soro por área da placa de vidro, encostando nela a ponta da pipeta em ângulo de 45°.
- O antígeno foi suavemente agitado e colocado 30 µl ao lado do soro, sem ser nele misturado.

- Em seguida misturou-se, por meio de um misturador de plástico, o soro e o antígeno com movimentos circulares, de modo a obter um círculo aproximado de 2 cm.
- Promoveu-se movimentos oscilatórios contínuos na placa durante quatro minutos, para permitir que a mistura soro-antígeno flua lentamente dentro de cada círculo.
- A placa foi colocada na caixa de luz indireta para realização da leitura

O soro que apresentou reação visível de aglutinação (grumos) em qualquer intensidade foram considerados reagentes e encaminhados para o teste confirmatório (ARAÚJO et al., 2001).

4.4.2 Prova do 2-Mercaptoetanol e Soroaglutinação lenta em tubos

4.4.2.1 Materiais utilizados

Para a realização das provas de SLT e do 2-ME, as quais são feitas em paralelo, designada como provas em série, foram utilizados: antígeno para a soroaglutinação lenta em tubo; o 2-Mercaptoetanol; uma solução salina 0,85%; solução salina 0,85% e fenicada 0,5%; as amostras de soro a testar (positivas para o AAT); soro controle positivo; soro controle negativo; tubos de ensaio; grade para tubos; pipeta de Bang; pipetas de 10 ml; caixa com luz indireta para leitura; estufa a 37°C; vidraria para diluição dos reagentes.

4.4.2.2 Metodologia do teste

- Diluiu-se o antígeno para soroaglutinação lenta em tubos 100 vezes em solução salina a 0,85% contendo 0,5% de fenol. Concentração final 0,045%.
- Diluiu-se o antígeno para soroaglutinação lenta em tubos 50 vezes em solução salina a 0,85% sem adição de fenol. Com concentração final 0,090%.
- Preparou-se a solução de 2-ME a 0,1 M misturando-se 7,8 ml de 2-ME a 992,20 ml de solução salina a 0,85% sem fenol, ou volumes menores, proporcionalmente.

- Para cada amostra de soro a testar, colocou-se em uma estante, duas fileiras de quatro tubos.
- Identificou-se o primeiro tubo de cada fileira com o número correspondente ao soro a testar.
- A primeira fileira correspondente às quatro diluições do soro do teste de soroprecipitação lenta em tubos foi marcada com a letra T. A outra fileira, em que se fez o teste do 2-ME, foi marcada com a letra M.
- Com a pipeta de Bang carregou-se o soro até passar um pouco da graduação superior. Com um papel absorvente, limpou-se o extremo da pipeta mantendo-se esta em posição vertical sobre a parede do tubo que contém a amostra, deixa-se escorrer o soro até que o fundo do menisco no interior da pipeta esteja nivelado com a sua graduação superior.
- Com a pipeta no fundo do primeiro tubo da primeira fileira, deixou-se fluir 0,08 ml de soro. No segundo tubo, depositou-se 0,04 ml, no terceiro 0,02 ml e no quarto 0,01 ml.
- Repetiu-se o procedimento descrito para depositar as mesmas quantidades de soro na segunda fileira de tubos, na série do 2-ME.
- Em todas as amostras do soro, repetiu-se o procedimento de forma similar, pipetando os soros para cada duas fileiras de tubos adequadamente identificados.
- Foram incluídos os soro controle positivo e negativo.
- Com a pipeta de 10 ml agregou-se a cada um dos tubos das fileiras T, 2 ml do antígeno diluído 1:100 em solução salina fenicada.
- Com a pipeta de 10 ml, foi agregado 1 ml de solução de 2-ME (diluído em solução salina sem fenol) a cada um dos tubos das fileiras M.
- Agitou-se a estante para misturar as soluções.
- Deixou-se as estantes com amostras em repouso durante 30 minutos à temperatura ambiente.
- Após isso, com a pipeta de 10 ml foi agregado a cada tubo da fileira M, 1 ml do antígeno diluído 1:50 em solução salina sem fenol.
- Misturou-se agitando a estante.
- As misturas foram colocadas em estufa a 37°C por 48 horas.

- As fontes de luz estranhas foram reduzidas para a leitura do teste por meio de uma fonte de luz indireta.

A interpretação da prova de soroprecipitação lenta e do 2-ME pode ser classificada como completa, incompleta ou negativa. A reação completa é quando o líquido da mistura soro-antígeno aparece translúcido e a agitação suave não rompe os grumos; a reação incompleta é aquela em que a mistura soro-antígeno aparece parcialmente translúcida, e uma suave agitação não rompe os grumos; já a reação negativa é aquela onde a mistura soro-antígeno aparece opaca ou turva, e uma agitação suave não revela grumos (BRASIL, 2006).

4.5 Análise Estatística

Para a verificação de uma possível associação entre sexo dos animais e soropositividade para brucelose, foi utilizado o teste exato de Fisher (ZAR, 1999), com nível de significância de 5%. Para a análise, foi utilizado o programa EpiInfo versão 6.04.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ato da colheita de sangue foi impossível separar os animais por idade e/ou procedência, pois não havia registros oficiais dos proprietários nem de suas propriedades. Além disso, é importante ressaltar que não foi observado nenhum animal marcado com “V”, deixando acreditar que não foi coletado sangue de animais vacinados, pois de acordo com o Art. 7º, § 1º da Legislação do PNCEBT do MAPA a marcação com um “V” no lado esquerdo da cara de fêmeas vacinadas de 3 a 8 meses é obrigatória (BRASIL, 2006). Dessa forma, foi possível apenas a separação do sexo, com o intuito de confirmar a susceptibilidade das fêmeas a *B. abortus*.

Na prova do Antígeno Acidificado Tamponado, dos 274 bovinos analisados, seis foram soropositivos (2,2%; IC 95% = 0,81% - 4,71%) (Tabela 3). Dos 103 bovinos machos, um (0,97%; IC 95% = 0,02% - 5,29%) foi soropositivo, enquanto cinco (2,92%; IC 95% = 0,96% - 6,69) das 171 fêmeas foram soropositivas. Não foi verificada diferença significativa na proporção de soropositivos entre bovinos machos e fêmeas ($p = 0,41$).

Na prova do 2-mercaptoetanol, das seis amostras reagentes no AAT, cinco (83,3%) foram confirmadas como positivas (Tabela 3). Todas as amostras positivas no 2-ME foram de fêmeas, resultando em uma soroprevalência de 1,82% (IC 95% = 0,59% - 4,21%). Também não foi verificada diferença significativa na proporção de soropositivos entre bovinos machos e fêmeas no teste confirmatório ($p = 0,16$). Na Tabela 4 são apresentados os títulos de anticorpos anti-*B. abortus* nas provas da SLT e 2-ME das amostras positivas no teste do AAT.

Tabela 3. Soroprevalência e intervalo de confiança de 95%, nos testes do Antígeno Acidificado Tamponado e 2-Mercaptoetanol com relação ao sexo, em bovinos abatidos no Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba, no período de setembro a dezembro de 2007. Patos – PB, 2008.

Sexo	AAT			2-ME		
	N	Prev. (%)	IC (95%)	N	Prev. (%)	IC (95%)
Macho	1/103	0,97	0,02 - 5,29	0/103	0	0,00 - 3,52
Fêmea	5/171	2,92	0,96 - 6,69	5/171	2,92	0,96 - 6,69
Total	6/274	2,2	0,81 - 4,71	5/274	1,82	0,59 - 4,21

Tabela 4. Títulos de anticorpos anti-*B. abortus*, pelas provas de Soroaglutinação Lenta em Tubos e do 2-Mercaptoetanol, nas amostras positivas no teste de triagem, em bovinos abatidos no Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba, no período de setembro a dezembro de 2007. Patos – PB, 2008.

Amostra	Prova de soroaglutinação lenta em tubos (UI/ml)	Prova do 2-ME (UI/ml)
F 19	50	25
F 54	200	200i
F 74	100	100
F 141	200	200
F 156	50	100
M 95	25	Negativo

F: fêmea; M: macho; I: reação incompleta

Foram detectadas apenas fêmeas verdadeiramente positivas, ou seja, aquelas que foram positivas tanto no teste de triagem como no confirmatório. Isso vem a confirmar a maior susceptibilidade de fêmeas à bactéria, apesar de não ter havido diferença significativa na análise estatística. Além disso, não foram observados quaisquer sinais clínicos ou lesões característicos da infecção, o que não significa dizer que esses animais não estão liberando a bactéria constantemente, deixando em alerta os profissionais em contato com esses animais,

como magarefes e médicos veterinários, visto que esses indivíduos são susceptíveis a essa doença nessas circunstâncias de abate.

Os resultados obtidos no presente trabalho levantam preocupações, pois bovinos soropositivos para a brucelose estão sendo encaminhados para abate, expondo os magarefes ao risco ocupacional. Dessa forma, é importante a adoção de algumas medidas preventivas, como o uso de luvas para manejar esses animais, bem como outras medidas de biossegurança necessárias.

Além disso, é necessário que haja um trabalho comunitário de esclarecimento para proprietários, tratadores e magarefes, bem como para lideranças de comunidades, agentes de saúde animal e consumidores. Devem ser seguidos os procedimentos preconizados pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), para que este atinja sucesso e que a sociedade tenha acesso a produtos de origem animal de baixo risco sanitário.

6 CONCLUSÃO

Foram encontrados bovinos abatidos no Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba, soropositivos para a brucelose, numa prevalência total de 2,2%, o que levanta preocupações do ponto de vista de saúde pública por se tratar de uma importante zoonose, expondo os magarefes ao risco ocupacional. Com relação ao sexo, houve uma soroprevalência maior para as fêmeas de 2,92%, enquanto que os machos tiveram 0,97%. Apesar disso, não foi verificada diferença significativa na proporção de soropositivos machos e fêmeas.

É necessário que haja um trabalho de conscientização desses profissionais, esclarecendo a importância de medidas de biossegurança bem como as consequências ocasionadas pela brucelose. Ressalte-se, também, a importância de se seguir as ações contempladas no Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), para que este atinja sucesso e que a sociedade tenha acesso a produtos de origem animal de baixo risco sanitário.

7 REFERÊNCIAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Brucellosis In: ACHA, P.N.; SZYFRES, B. (editors). **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales** (Publicación Científica 503). Washington: Organización Panamericana de La Salud, p. 14-35, 1986.

AGÊNCIA - Agência Sergipe de notícias. Disponível em: <http://www.agencia.se.gov.br/index.php?act=leitura&codigo=5674>. Acesso em 08 de fevereiro de 2008.

ARAÚJO, F. R.; SOARES, C. O.; MADRUGA, C. R. Protocolos de técnicas. In: MADRUGA, C. R.; ARAÚJO, F. R.; SOARES, C. O. **Imunodiagnóstico em medicina veterinária**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. p. 177-341.

AZEVEDO, S. S. **Caracterização Epidemiológica da brucelose bovina no estado do Espírito Santo**. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária. São Paulo, 2006.

BANNATYNE, C. C., *Brucella abortus* infection in a Blackface ewe. **Veterinary Record**, v. 72, n. 33, p. 660-661, 1960.

BATHKE, W. Brucellosis. In: BEER, J. (Editor). **Doenças infecciosas em animais domésticos: doenças causadas por vírus, clamídias, rickettsiose, micoplasmose**. Roca: São Paulo, v. 2, p. 144 a 160, 1988.

BISHOP, G. C.; BOSMAN, P. P., HERR, S. Bovine brucellosis. In: COETZER, J. A. N.; THOMSON, G. R.; TUSTIN, R. C. (Editors). **Infectious diseases of Livestock**, v. 2, Texas A&M University Press, College Station, Austin, p. 1053-1066, 1994.

BRANDON, M. R.; WATSON, D. C.; LASCELLES, A. K. The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, v. 49, p. 613-623, 1971.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária – Departamento de saúde animal. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT). Manual Técnico.** Brasília, 2006. 184 p.

CARTER, G. R.; CHENGAPPA, M.M. *Brucella* (cap. 24). **Essentials of veterinary bacteriology and mycology**. 4. ed. Philadelphia: London, p. 196-201, 1991.

CEPAV - Laboratórios CEPAV. **Brucelose eqüina, uma doença pouco conhecida.** Disponível em: http://www.cepav.com.br/textos/t_bruceq.htm, Acesso em 08 de fevereiro de 2008.

CORBEL, M. J.; Recent Advances in the study of *Brucella* antigens and their serological cross-reactions. *Veterinary Bulletin*, December, v. 55 n. 12 p. 927-942, 1985.

COSTA-DIAS, R.; COSTA, C. A.; IGREJA, H. P. **Brucelose animal e risco potencial para infectar humanos em um matadouro-frigorífico no extremo sul da Bahia.** Ilhéus. Disponível em: http://www.alka.com.br/site/trabalhos/brucelose_03.pdf. Acesso em: 20 de jan. 2008.

FORBES, L. B. *Brucella abortus* infection in 14 farm dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 196, n. 6, p. 911-916, 1990.

GARCIA-CARRILO, C. **La brucellosis de los animales em América y su relación com La infección humana.** Paris: Office Internacional de Epizooties, 1987, 303p.

METCALF, H. E.; LUCHSINGER, D. W.; RAY, W. C. Brucellosis. In: BERAN, G. W.; STEELE, J. H. (Editors). **Handbook series in Zoonoses. Section A: Bacterial, Rickettsial, Chlamydial, and Mycotic**. 2. Ed. CRC Press, Boca Raton, p. 9-39, 1994.

NICOLETTI, P. The epidemiology of bovine brucellosis. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, v. 24, p. 69-98, 1980.

OIE - OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. Terrestrial animal health code, 2005. 14. ed. Disponível em: http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_sommaire.htm. Acesso em: 18 fev. 2008.

OSORIO, A. L. A. R.; MADRUGA, C. R.; SOARES, C. O.; ARAÚJO, F. R.; JORGE, K. S. G.; MONTEIRO, L. A. R. C.; ALMEIDA, R. F. C. Editores: ALMEIDA, R. F. C.; SOARES, C. O.; ARAÚJO, F. R. **Brucelose e Tuberculose Bovina – Epidemiologia, controle e diagnóstico**. Embrapa Gado de Corte. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília. 2004. p. 94.

PAULIN, L.M.; FERREIRA NETO, J.S.; **A experiência brasileira no combate a brucelose bovina**. Jaboticabal: Funep, 2003. 154 p.

POESTER, F. P.; GONÇALVES, V. S. P.; LAGE, A. P. Brucellosis in Brazil. **Veterinary Microbiology**. v. 90, n. 1-14, p. 55-62, 2002.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005, 512 p.

RADOSTITS, O. M., GAY, C. C., BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9. ed Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737 p.

RIET-CORREA F., SCHILD A. L., MÉNDEZ M.C., LEMOS R.A.A.; **Doenças de Ruminantes e Eqüinos**, Ed. Varela, v. 1, 2001. p. 425

RONALD, B. S. M. PRABHAKAR, T. G.; Bacterial analysis of semen and their antibiogram. *Indian Journal of Animal Sciences*, v. 71, n. 9, p. 829-831, 2001.

SAMARTINO, L. E.; ENRIGHT, F. M. Interaction of bovine chorioallantonic membrane esplants with three strains of *Brucella abortus*. *American journal of Veterinary Research*, Schaumburg, v. 53, p. 359-363, 1992.

SPINOLA, A. G.; COSTA, M. D. M. **Brucelose humana em operários de um frigorífico no município de Salvador Bahia Brasil** *Revista Saúde Pública*. São Paulo. p. 157-165, 1972.

THRUSFIELD, M. *Veterinary epidemiology*. 2. ed. Cambridge: Blackwell Science, 1995. 479 p.

TIMONEY, J. F.; GILLESPIE, J. H.; SCOTT, F. W.; BARLOUGH, J. E. The genus *Brucella*
In: TIMONEY, J.F. GILLESPIE, J. H.; SCOTT, F. W.; BARLOUGH, J. E. **Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Aniamals**. Comstock Publishing Associates, London, p. 135-152, 1988.

ZAR, J. H.; **Biostatistical analysis**. 4. ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999. 663 p.