

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 Santa Cruz, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil.

Rafael da Rocha Ferreira

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 Santa Cruz, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil.

Rafael da Rocha Ferreira
Graduando

Professor Dr. Albério Antônio de Barros Gomes
Orientador

Patos
Agosto de 2008

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

Rafael da Rocha Ferreira
Graduando

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

ENTREGUE EM: / /

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA:

Professor Dr Albério Antonio de Barros Gomes.
Orientador

Professor Dr. Sérgio Santos de Azevedo
Examinador I

Professora Msc. Cláudia Morgana Soares
Examinador II

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família, em especial (*in memória*) de meus avós Francisco Freire da Rocha e Isabel Belita da Rocha, pelos ótimos anos em que convivemos e pelos seus ensinamentos. E aos meus pais Felizardo e Lúcia pelo amor, dedicação, esforço, paciência e luta que tiveram comigo durante todos esses anos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar saúde e força para permitir que pudesse realizar os sonhos não só meu, mas de toda minha família.

Aos meus pais por me ensinarem a viver, por estarem comigo sempre e serem muito mais do que pai e mãe, serem amigos. Obrigado por tudo Painho e Mainha.

Aos meus avôs paternos Joaquim Marques Ferreira “vô Peba” e Francisca Lourenço Maia “Chiquinha” (In memória) por me ensinarem o valor que tem a família e o respeito que deve existir entre ela.

A minha noiva Margarethe, que apesar da distância esta sempre ao meu lado apoiando com uma palavra amiga e nos momentos difíceis soube ter fé.

A Vitória que sempre me ajudou, convivendo e fazendo parte da minha família e que neste momento estar passando por problemas de saúde mas que com fé em Deus serão superados.

Aos meus tios, primos e demais familiares que me apoiaram e sempre acreditaram em mim em especial Tio Fernando, Tio Chagas, Tia Cida, Tia Célia, Tia Rita, Tia Lucy, Tia Lucineide, Tia Feluzia, Tia Fátima, Rayssa, Rayane, Larissa, Ingride e Mikita,

A meus amigos de infância Diego, William, Ana Paula, André, Cíntia, Fábio, Larissa Layane, Larissa Costa, Alfredo, Tal, Lúcia pelo companheirismo e ótimos momentos que sempre estão acontecendo.

Aos médicos veterinários Aurélio Buriti de Macedo e Érika Ruth Vieira por ter me dado a oportunidade de aprender muito na sua convivência durante a vida acadêmica e pela amizade que formamos.

Aos amigos irmãos da turma 2008.2, em especial Otávio Lamartine (Bolinha), Andréa Pereira, Ari, José Mathias (Gordo Zé), Francisco Heitor (Macaíba), Carlos Eduardo (Piruka), Maiza, Laise, Lucas (caruaru), Lucélia, Giu, Thiago Sapupara, Érico (Salshicha) e Fernando (Ventão) com quem pude compartilhar muitos momentos divertidos e outros nem tanto mas que ajudaram e mostraram que amizade nesse mundo vale mais que qualquer outra coisa.

A toda Meninada da veterinária pela convivência e pelos momentos de descontração que passamos durante o curso.

Ao professor Dr. Albério Antônio de Barros Gomes , pela dedicação durante a realização da monografia.

Ao professor Dr. Sérgio pela colaboração com este trabalho.

A todos os professores que contribuíram para meu aprendizado dentro da universidade.

Aos funcionários em especial dona Tereza e Damião.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste sonho.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE TABELAS.....	7
RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1. Histórico.....	11
2.2. Agente etiológico.....	12
2.3. Patogenia	14
2.4. Sinais clínicos	15
2.5. Distribuição geográfica.....	16
2.6. Hospedeiro	17
2.7. Transmissão.....	18
2.8. Diagnóstico	19
2.8.1. Métodos direto.....	19
2.8.2. Métodos indiretos.....	20
2.9. Controle e Prevenção.....	22
2.10. Brucelose no homem.....	24
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1. Animais	26
3.2. Amostragem	26
3.3. Coleta das amostras.....	27
3.4. Diagnóstico.....	27
3.4.1. Diagnóstico sorológico.....	27
3.4.2. Materiais utilizados.....	27
3.4.3. Metodologia do teste.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5. CONCLUSÃO.....	31
6. REFERENCIAS.....	32

TABELA

Pág.

TABELA 1 – Quadro 1 hospedeiros comuns e espécies ocasionalmente infectadas.....	13
---	----

RESUMO

FERREIRA, RAFAL DA ROCHA. Soroprevalência de Brucelose em bovinos abatidos no Matadouro Público Santa Cruz, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. UFCG, 2008. 36p.

A brucelose é uma doença infecto- contagiosa provocada por bactérias do gênero *Brucella*. Sendo uma zoonose de distribuição universal, acarreta problemas sanitários importantes e prejuízos econômicos vultosos. As principais formas de manifestação nos animais, evidenciam-se pelo abortamento, esterilidade e baixa produtividade, o que corrobora para uma acentuada queda no potencial produtivo animal. As conseqüências drásticas causadas por esse agente infeccioso, justificam a preocupação em fazer um estudo de prevalência de *B. abortus* no município de Santa Cruz - RN . Para tanto foram colhidas 297 amostras de soro de bovinos abatidos no matadouro público da cidade, submetido ao teste do Antígeno Acidificado Tamponado, no período não foram detectado casos positivos.

Palavras chave: Esterilidade, *B. abortus*

ABSTRACT

FERREIRA, RAFAEL DA ROCHA. Soroprevalência of Brucellosis in bovine abated at the Public Slaughterhouse Santa Cruz, State of Rio Grande do Norte, Brazil. UFCG, 2008. 36p.

The brucellosis is a disease infect - contagious provoked by bacteria of the gender Brucella. Being a zoonose of universal distribution, it carts important sanitary problems and bulky economical damages, the main manifestation forms in the animals, are evidenced by the abortament, sterility and low productivity, what corroborates for an accentuated fall in the potential productive animal. Them drastic consequence caused by that agent infectante, it justifies the concern in doing a study of prevalence of *B. abortus* in the municipal district of Santa Cruz - RN. For so much they were picked 297 samples of serum of males and females abated at the public slaughterhouse of the city, as I diagnose, the test of the AAT, as selection proof, being verified that none of them reacted positively.

Words key: Sterility, *B. abotus*

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento da frequência das doenças, dos fatores que condicionam sua presença e possibilitam sua difusão, são de fundamental importância na elaboração dos programas de saúde. “A subordinação da estratégia de luta ao comportamento de uma doença no tempo e no espaço, permite maior racionalização das atividades com melhores possibilidades de êxito em menor prazo e com menor custo” (MARTINS et al., 1996).

A brucelose é uma doença infecto-contagiosa provocada por bactérias do gênero *Brucella* sendo elas pequenos cocobacilos Gram – negativos. A doença é caracterizada por ser uma antropozoonose de evolução preferencialmente crônica tendo como principais formas de manifestação o aborto no terço final da gestação, nascimento de prematuros, esterilidade e baixa na produção de leite e carne, o que colabora para uma acentuada queda no potencial produtivo dos animais.

A doença é prevalente em todo o mundo ocasionando problemas relacionados à saúde pública gerando também prejuízos econômicos ao tornar o produto susceptível a barreiras sanitárias, comprometendo sua competitividade no comércio internacional.

O impacto na esfera produtiva e o risco da doença em humanos, faz com que a maioria dos países forneçam recursos para erradicá-la da população dos animais domésticos. O programa atual de controle existente no Brasil têm como base dois métodos: a vacinação de fêmeas entre três e oito meses, bem como o abate de animais infectados.

Este trabalho teve como objetivo determinar a soroprevalência da brucelose bovina em animais abatidos no matadouro público no município de Santa Cruz - RN.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Histórico

Uma das mais minuciosas entre as antigas descrições da brucelose foi feita por Marston, em 1863, apesar de que a doença já era conhecida anteriormente ocorrendo no homem e recebida nomes como febre de Malta, febre de Chipre, mostrando sua distribuição ao longo do mar mediterrâneo. Em 1886, Sir David Bruce, médico inglês, foi a Malta estudar uma doença febril que acometia os soldados ingleses, nos soldados mortos pela doença observou-se numerosos microorganismos cocóides; no ano seguinte, conseguiu-se cultivar e isolar nomeando *Micrococcus melitenses*. Já Nocard, em 1885 havia observado numerosos organismos cocóides em casos de abortos bovinos, porém foram Bang e Stribolt que em 1897 cultivaram e isolaram o agente dos abortos (BIER, 1941).

Wright, em 1896, idealizou uma soro- aglutinação lenta com cultivos do agente da febre de Malta e soro de enfermos. Em 1905 Zammit, em Malta e sob direção de Sir David Bruce, verificou que o soro de grande proporção de cabras maltesas dava reação positiva com o antígeno de Wright, e que seu leite continha o agente (CORRÊA; CORRÊA, 1992).

Traum em 1914, nos EUA, isolou de suínos um microorganismo similar ao da febre de Malta e dos abortos bovinos de Nocard. Alice Evans, nos EUA, em 1918, demonstrou que as bactérias isoladas por Sir David Bruce e por Bang eram similares e propôs o nome genérico *Brucella*, em homenagem ao pesquisador inglês, o qual foi aceito oficialmente em 1920 para esses dois agentes, e em 1928, por proposta de Huddleson, foi aceito para amostra suína isolada por Traum . As três espécies foram então denominadas *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* e *Brucella suis*. Em 1953, Budlle e Boyes, na Austrália, isolaram de ovinos uma nova espécie que foi denominada de *Brucella ovis* (BIER, 1941).

Nos EUA no ano de 1957, Stoenner e Lachman isolaram de um rato do deserto (*Neotoma lepida*), outra espécie que denominaram *Brucella neotomae*, que até hoje não se mostrou patogênica para os animais domésticos e o homem. Em 1966, também nos

EUA Carmichael isolou de cães uma espécie que mostrava patogenicidade para cães e para o homem, denominando-a de *Brucella canis* (CORRÊA; CORRÊA, 1992). No ano 1994 foram isoladas do Reino Unido, um grupo de *Brucella* a partir de mamíferos marinhos denominada de *Brucella maris* (LOPEZ, 2004).

2.2. Agente etiológico

As espécies de *Brucella* são pequenas bactérias Gram- negativas (0,6X 0,6 a 1,5 μm) cocobacilares e imóveis. Como não descoram pelo ácido acético a 0,5% na técnica de coloração de Ziehl-Neelsen modificado (ZNM), são classificados como ZNM-positivos. Em esfregaços de fluidos corpóreos ou de tecidos corados pelo ZNM, aparecem caracteristicamente como agrupamento de cocobacilos vermelhos. Para fins taxonômicos, todas as espécies de *Brucella* podem ser classificadas conforme, estudo de hibridização do DNA, que tem mostrado que o gênero contém somente uma espécie. Por razões práticas, contudo é admissível o uso do nome brucelas anteriormente consideradas como espécie. As espécies de *Brucella* são aeróbias capnofílicas e catalase positiva, com exceção da *Brucella ovis* e da *Brucella neotomae*. Alguns biótipos de *Brucella abortus* e *Brucella ovis* requerem 5 a 10 % de CO₂ para isolamento primário. Além disso, o crescimento de outras espécies de *Brucella* é melhorado em uma atmosfera de CO₂. (QUINN et al., 2005). Meios enriquecidos com sangue ou com soro são requeridos para cultivo de *Brucella abortus* biótipo 2 e *Brucella ovis* (ROSS et al., 1994).

A bactéria do gênero *Brucella* compreende sete espécies morfológicamente indistinguíveis: *B. abortus* - bovino, *B. melitensis* - caprinos e ovinos, *B. suis* - suínos, *B. ovis* - ovinos, *B. canis* - cães, *B. neotomae* - ratos do deserto e a *B. maris* - focas, leões marinhos, golfinhos e baleias. (LOPEZ, 2004). Com exceção da *Brucella ovis* e da *B. neotomae* da *B. maris*, todas as outras espécies já foram encontradas no homem. (RIET- CORREA, 2001) vale salientar que as *Brucella sp* não são espécies específicas mas, têm eletividade de espécies -como é demonstrado no quadro 1. (CORREA; CORREA, 1992).

Quadro 1 hospedeiros comuns e espécies ocasionalmente infectadas

Espécies de Brucela	Hospedeiro comum	Espécies ocasionalmente infectadas.
<i>B. abortus</i>	Bovino	Ovino, caprino, suíno eqüino e humanos.
<i>B. melitensis</i>	Caprino e Ovino	Bovino e humanos
<i>B. suis</i>	Suínos	Humanos.
<i>B. ovis</i>	Ovinos	
<i>B. canis</i>	Cães	Humanos
<i>B. neotomae</i>	Ratos do deserto	
<i>B. maris</i>	Focas, leões marinhos, golfinhos e baleias	

Fonte: QUINN et al., 2005

As bactérias do gênero *Brucella* se reúnem em dois grupos antigenicamente distintos *Brucellas* lisas ou clássicas tendo como exemplo, *B. abortus* apresentando oito biótipos, *B. suis* com cinco, *B. melitensis* com três; e o outro grupo denominado de *Brucellas* rugosas fazendo parte desse grupo a *B. ovis*, *B. canis* e a *B. neotomae* que embora apresente variantes não se subdividem em biótipos (ACHA, 1986; METCALF et al., 1994) a classificação em biótipos ou tipos diferentes bioquimicamente ocorre em função da necessidade de CO₂, produção de H₂S, crescimento em presença de fucsina ou tionina e aglutinação frente aos soros monoespecíficos. (MOLNÁR et al., 1997).

No Brasil já foram isolados a *B. abortus* biótipo 1,2 e 3 e *B. suis* biótipo 1 também já foram identificadas a *B. canis* e a *B. ovis* (BRASIL, 2004).

As brucelas resistem bem à inativação no meio ambiente. Se as condições de pH, temperatura e luz são favoráveis, elas resistem vários meses na água, fetos, restos de placenta, fezes, lã, feno, matérias e vestimentas, e também em locais secos (pó e solo) e a baixas temperaturas (ALTON, 1988).

No leite e produtos lácteos sua sobrevivência depende da quantidade de água, temperatura, pH e presença de outros microorganismos. Quando em baixas concentrações são facilmente destruídas pelo calor. A pasteurização, os métodos de esterilização a altas temperaturas e a fervura eliminam as brucelas, sendo que em produtos que não sofreram tal processo de conservação elas podem resistir por vários

meses. Na carne sobrevivem por pouco tempo, dependendo da quantidade de bactérias presentes, do tipo de tratamento sofrido pela carne e da correta eliminação dos tecidos que concentram um maior número de bactérias sendo eles: o tecido mamário, órgãos genitais e linfonodos (RIET- CORREA, 2001).

Boa parte dos desinfetantes como formol, fenol, hipoclorito são ativos contra as brucelas em soluções aquosas, vale salientar que os desinfetantes amoniacais não apresenta uma boa atividade contra elas (ACHA, 1986) os raios ultravioletas e ionizante destroem, também, essas bactérias (RIET- CORREA, 2001)

Os desinfetantes mais utilizados são: Cloreto de sódio a 8% acrescido de 1 % de ácido clorídrico, soda quente a 2%, compostos ortofenolados 3-5%, álcool a 70° e cresol a 5%, (CORRÊA, 1975).

2.3. Patogenia

Em todas as espécies de animais inclusive no homem as principais portas de entrada são a mucosa digestiva, a conjuntiva, a pele lesada, a mucosa genital também pode ser uma porta de entrada assumindo uma importância significativa principalmente no suíno, nos bovinos a principal porta de entrada é a mucosa oro faríngea (VASCONCELLOS, 1987; BISHOP et al., 1994). Uma vez ultrapassadas as barreiras naturais da porta de entrada as brucelas se encaminham para os gânglios linfáticos regionais e a partir deste, via linfática ou sanguínea, disseminam-se por todo organismo, indo colonizar os órgãos ou tecidos ricos em células do sistema reticulo endotelial, tais como gânglios linfáticos, medula óssea, fígado, baço e articulações (VASCONCELLOS, 1987).

Uma das características da infecção por *Brucella* é o fato da bactéria poder resistir aos mecanismos de destruição das células fagocitárias e sobreviver dentro de macrófagos por longos períodos, sendo ela um mecanismo de evasão do sistema imune, protegendo contra ação de anticorpos (BRASIL, 2004).

Existe uma predileção da brucela por órgãos e tecidos que contenha eritritol necessário para seu metabolismo, que está presente no útero gravídico, tecidos mamários, ósteo articulares e órgãos do sistema reprodutor masculino, vale salientar que

a quantidade de eritról aumenta consideravelmente a partir do quinto mês de prenhes (CARTER, 1991).

A infecção no útero gestante ocorre por via hematológica (BRASIL, 2004), deixando de ser latente geralmente no terço final da gestação, quando o tecido córion-alantoideano está bem desenvolvido e há disponibilidade dos metabólitos. 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). Tais lesões inflamatória-necróticas impedem a passagem de nutrientes e oxigênio da mãe para o feto, assim como provocam a infecção maciça do feto por *B. abortus* sendo responsáveis pelo o aborto (BRASIL, 2004). Quanto maior a necrose, maior a chance de ocorrer abortamento, único sintoma aparente na maioria das infecções brucélicas (BATHKE, 1988). Por outro lado, quanto menos intensa a necrose maior será a deposição de fibrina e mais tardio o abortamento. Nesse caso, pode ocorrer a retenção de placenta, ou a gestação vir a termo, porém gerando produtos fracos que poderão morrer em alguns dias. O quadro pode evoluir para metrite ou endometrite crônica e conseqüente subfertilidade, infertilidade ou esterilidade (TIMONEY, 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, 2004).

2.4. Sinais clínicos

A brucelose pode manifestar-se de maneira distinta conforme o hospedeiro. Nos bovinos e bubalinos, a principal manifestação clínica é o abortamento, que ocorre em torno do sétimo mês de gestação. Após a infecção, o aborto quase sempre acontece na primeira gestação; mas, em decorrência do desenvolvimento da imunidade celular, é pouco freqüente nas gestações subseqüentes. Os animais infectados apresentam placentite necrótica, sendo comum à retenção de placenta. Após o primeiro aborto, são mais freqüentes a presença de natimortos e o nascimento de bezerros fracos. Nos rebanhos com infecção crônica, os abortamentos concentram-se em fêmeas primíparas e animais sadios, recentemente introduzidos (BRASIL, 2004).

O feto geralmente é abortado 24 a 72 horas depois de sua morte, sendo comum sua autólise. Não há nenhuma lesão patognomônica no feto abortado porém com frequência observa-se broncopneumonia supurativa (BRASIL, 2004).

As fêmeas não gestantes expostas a quantidades pequenas de brucelas podem desenvolver a condição de portadoras assintomáticas (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). Já, as vacas prenhes são mais susceptíveis à brucelose e a maioria delas permanecerá cronicamente infectada, com o agente presente no útero e linfonodos (BISHOP, et al., 1994). A brucelose causa redução na produção de leite entre 20- 25%, mortalidade de bezerros (0-12 meses) de 20 – 25%, esterilidade de 10 – 20% e perda de peso de 10-15% (SOUZA et al., 1997).

Nos touros a infecção se localiza principalmente nos testículos, vesículas seminais e próstata. A doença manifesta-se por orquite, demonstrando inicialmente um aumento de volume e temperatura dos testículos, que acarreta baixa de libido e infertilidade. Os testículos podem apresentar, também, degeneração, aderência e fibrose. Às vezes podem apresentar higromas, bursites e artrites (RIET-CORREA et al., 2001; TEIXEIRA, 1996).

No homem a brucelose não esta associada a sintomas característicos. Na fase aguda são descritos, mal estar, dores musculares e variação de temperatura de modo ondulante, similares ao de uma gripe forte a forma crônica apresenta-se predominante. A sintomatologia mais frequente é neuro-psíquica: melancolia, irritabilidade, prostração, cefaléia, inapetência, hipertensão, dispnéia. (RIET-CORREA et al., 2001).

2.5. Distribuição geográfica

A brucelose por *Brucella abortus* apresenta distribuição universal, com exceção do Japão, Austrália, Canadá e de vários países europeus onde foi erradicada, com adoção de mediadas iniciadas a mais de vinte anos. Alguns países mantêm a brucelose controlada e com diminuição de sua incidência, como é o caso da França e dos Estados Unidos da América. (MOLNÁR et al., 1997). Apresentando se mais concentrada nos países em desenvolvimento: da África, da América do Sul, do Oriente Médio e da Ásia (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). No Brasil ela é endêmica e as perdas econômicas são causadas por abortos, redução de 15% da na população de bezerros, aumento no

intervalo entre partos de 11,5 passando para 20 meses, diminuição de 25% na produção de carne e leite e por complicações reprodutivas, com períodos de esterilidade temporária ou infertilidade, além da desvalorização das propriedades e seus animais. No Brasil estudos mostram que a brucelose bovina aparece estar disseminada por todo o território, com maior ou menor prevalência dependendo da região estudada. Em 1975, foram verificadas as seguintes prevalências em animais por regiões: Sul, 4% ; Sudeste 7,5%; Centro-Oeste 6,8%; Nordeste 2,5% e Norte 4,1% (BRASIL, 2004).

Posteriormente, alguns estados realizaram estudos sorológicos por amostragem, os quais evidenciaram algumas alterações em relação aos índices nacionais verificados em 1975. No Rio grande do Sul, a prevalência passou de 2% para 0,3% no ano de 1986. Em Santa Catarina passou de 0,2% em 1975 para 0,6% em 1996. Em Minas Gerais, passou de 7,6% em 1975 para 4,6% em 1989. Os dados oficiais, publicados no boletim da Defesa Sanitária Animal mostram que a prevalência de animais positivos no Brasil se manteve entre 4% e 5% no período entre 1988 a 1998 (POESTER et al., 2002). Na região Nordeste em 1975 a percentagem de animais soro positivos na região foi de 4,1% , já em 1993 a prevalência na mesma região foi de 4,53% (RIET-CORREA et al., 2001).

A morbidade é bastante variável atingindo 10 a 50% às vezes mais. A doença se mantém endêmica e não há mortalidade e nem letalidade. A única ocasião em que a brucelose se comporta como epidemia, causando surto de aborto é quando recém ingressa numa criação (CORREA; CORREA, 1992).

2.6. Hospedeiro

Os bovinos sexualmente maduros e fêmeas prenhes são mais sensíveis à infecção do que bovinos imaturos de qualquer sexo, estando a doença relacionada a maturidade sexual, vale salientar que ela pode ocorrer em animais impúberes. Os bezerros mesmo que se infectem (transitoriamente) por mamar leite contaminado, ou mais tarde durante a sua fase impúbere, geralmente eliminam o agente pelas fezes (ACHA, 1986; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). Entretanto há alguns casos bem comprovados de transmissão vertical em bezerros nascidos de vacas doentes, em que houve um longo silêncio do agente que mais tarde foi isolado dessas fêmeas (LAPRAIK et al., 1975).

Além dos bovinos outros animais podem se infectar pela *Brucella abortus* como exemplo temos: bubalinos, suínos, caprinos , ovinos , cães e eqüinos; vale salientar que em caprinos e ovinos a infecção é ocasional. (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

Em animais silvestres já foram encontrada a brucelose em queixada (*Tayassu pecari*) e capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (ITO et al., 1998) nos Estados Unidos e no Canadá a *Brucella abortus* foi isolada da placenta de veados (*Odocoileus virginianus* *O. bimionus*) e alces (*Alces alces*) (BISHOP et al., 1994).

2.7. Transmissão

A principal fonte de infecção é a vaca prenhe, que elimina grandes quantidades do agente por ocasião do aborto ou parto e em todo o período puerperal contaminando pastagens, água, e fomites (BRASIL, 2004).

A doença é transmitida através da ingestão, penetração da pele e da conjuntiva intacta. O pasto infectado ou o consumo de outros alimentos e dos suprimentos de água contaminada pelos corrimentos e pelas membranas fetais das vacas infectadas, bem como o contato com fetos abortados e bezerros recém nascidos infectados são os modos mais comuns de disseminação (RADOSTITS et al., 2002).

O período de incubação da brucelose pode ser de semanas a meses ou anos. Considerando o momento de infecção, o período de incubação é inversamente proporcional ao tempo de gestação, ou seja, quanto mais adiantada a gestação, menor o período de incubação (BRASIL, 2004).

A transmissão pelo coito parece não ser de grande importância para bovinos e bubalinos. Na monta natural o sêmen é depositado na vagina onde existem defesas inespecíficas que dificultam o processo de infecção. Entretanto um touro infectado não pode ser utilizado como doador de sêmen isso porque na inseminação artificial, o sêmen é introduzido diretamente no útero, permitindo a infecção da fêmea, sendo por isso uma importante via de transmissão e eficiente forma de difusão da enfermidade nos planteis (BRASIL, 2004).

A infecção congênita pode ocorrer nos bezerros nascidos de fêmeas infectadas, mas sua freqüência é baixa. A infecção ocorre *in útero* pode permanecer latente no bezerro durante o início da vida, permanecendo sorologicamente negativo até o seu

primeiro parto, quando em seguida começa a eliminar o microrganismo (RADOSTITS et al., 2002).

2.8. Diagnóstico

O diagnóstico da brucelose pode ser feito pela identificação do agente por métodos diretos, ou pela detecção de anticorpos contra *Brucella abortus* por métodos indiretos (BRASIL, 2004).

2.8.1. Métodos Diretos

Os métodos diretos baseiam-se no isolamento do agente a partir de tecidos de fetos abortados, placenta secreção vaginal, gânglios, leite e sêmen. É o método de diagnóstico mais seguro, no entanto, apresenta dificuldades tanto de colheita e conservação das amostras quanto de procedimentos de execução da técnica (POESTER, 2002).

A técnica de inoculação em animais de laboratório, para posterior isolamento e identificação do agente, tende a ter seu uso diminuído. A reação em cadeia pela polimerase (PCR) e técnicas imunohistoquímicas são utilizadas com a finalidade de caracterização das brucelas em materiais suspeitos (GUARINO et al., 2000; PAULIN; FERREIRA NETO 2003).

2.8.2. Métodos indiretos

Estudos sorológicos reforçam as investigações epidemiológicas que são usados para identificar rebanhos infectados com brucela. Muitas vezes casos de falhas reprodutivas e abortamento são atribuídas à brucelose pelo Teste do Rosa Bengala (TRB) e pelo teste de soroaglutinação lenta em tubos (SAL) (NIELSEN, 2002).

Esses testes visam demonstrar a presença de anticorpos contra *Brucella sp.* em vários fluidos corporais como soro sanguíneo, leite, muco vaginal e sêmen. O teste sorológico perfeito deveria detectar infecções nos estágios iniciais da doença, antes da

ocorrência do abortamento e deveria discriminar anticorpos de vacinação e infecção; da mesma maneira, não deveria apresentar reações falso-positivas e falso-negativas (NIELSEN, 2002). Ainda não existe tal teste para diagnóstico da brucelose (BOSCHIROLI et al., 2001).

As reações falso-positivas são decorrentes de fatores distintos: primeiro, a reação pode ocorrer devido à presença de anticorpos não específicos presentes nas infecções por outras bactérias como: *Yersenia enterocolitica*, *Salmonela sp*, *Encherichia coli* ou *Pseudomonas sp*. designando uma reação cruzada, outra forma e a presença de anticorpos colostrais de animais de até quatro meses de idade apresentando uma prova sorológica positiva (BISHOP et al., 1994). Outro caso pode ocorrer como resultado da vacinação com B19 após da idade recomendada (BRASIL, 2004).

Os resultados falso-negativos são encontrados em infecções recentes e a proximidade do parto ou aborto, apresentando títulos baixos de anticorpos embora sejam excretoras do agente (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

A resposta sorológica à infecção por *Brucella sp* é influenciada por muitos fatores que interfere nos desempenho das diferentes provas sorológicas destacam -se entre esses : o longo e variável período de incubação da doença durante o qual a sorologia pode ser negativa, o “status” vacinal dos animais, a natureza do desafio, a variação individual de resposta a vacinação e a infecção e o estágio da gestação no momento da infecção. A melhor estratégia que tem sido validada por vários países que conseguiram avanços significativos no combate a brucelose costuma ser a combinação de testes, utilizados em série. Essa estratégia tem como base a escolha de um teste de triagem de fácil execução, barato e de boa sensibilidade, seguido de um teste confirmatório, a ser realizado apenas nos soros que resultaram positivo no teste anterior, geralmente mais elaborado, porém com melhor especificidade que o teste de triagem. Esse teste confirmatório tem que ter também boa sensibilidade (NIELSEN, 2002).

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) definiu como oficiais os seguintes testes: Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) “teste de rotina realizado por médico veterinário habilitado, por laboratório credenciado ou instituição oficial, Anel em Leite poderá ser utilizado pelo serviço de defesa oficial, ou por, médico veterinário habilitado, para monitoramento de estabelecimento de criação certificados como livre de brucelose (TAL), 2-Mercaptoetanol (2- ME) será utilizado como teste confirmatório e realizado por laboratório credenciado ou instituição oficial e Fixação de Complemento (FC) será

utilizado como teste confirmatório realizado por laboratório oficial credenciado sendo este utilizado em trânsitos internacionais de animais . Células inteiras de *Brucella abortus* 1119-3 são utilizadas na preparação dos antígenos (BRASIL, 2004).

O AAT, deve ser utilizado como teste de rotina de acordo com as condições e critérios estabelecidos pelo Ministério da Agricultura. Deverá ser realizado por Médico Veterinário em laboratório credenciado. A presença de qualquer aglutinação classificara o animal como reagente ao teste; os animais não reagentes serão considerados negativos e os que apresentarem reações poderão ser submetidos a testes confirmatórios a critério do Médico Veterinário credenciado. Os positivos deverão ser destinados ao abate sanitário (MARQUES, 2003).

O 2- ME é utilizado como teste complementar às provas de soroglutinação lenta em tuba. A prova baseia-se na ação de compostos que contem o radical tiol (2- ME), que degradam a configuração em pentâmero da IgM, determinando assim a perda da sua atividade aglutinante. Esse processo torna o teste sensível as aglutinas estabelecidas pela classe IgG, que não sofre alteração na sua atividade na presença desse reagente (ALTON et al., 1988). Conforme Nielsen (2002) a prova de 2- ME gera reação de falso positivo em menor quantidade que provas de soroglutinação rápida em placa, soroglutinação lenta em tubo e antígeno acidificado tamponado (AAT).

2.9. Controle e prevenção

O controle da brucelose apóia-se basicamente em ação de vacinação em massa de fêmeas, diagnóstico e sacrifício dos animais positivos. Sendo também muito importantes as medidas complementares, que visam diminuir a dose de desafio, bem como é importante o controle de transito para os animais de reprodução, programas de desinfecção e utilização de piquetes de parição são iniciativas simples que trazem como resultados a diminuição de quantidade de brucelas vivas presente no ambiente. Isso significa um aumento dos índices de proteção da vacina e diminuição da chance da bactéria infectar um novo susceptível (BRASIL, 2004).

A estrutura de um bom sistema de vigilância é extremamente importante no combate à brucelose bovina, tradicionalmente é recomendado para verificar se a condição de livre está sendo mantida por rebanhos de uma dada região, todavia também pode ser bastante útil para eliminar os resíduos de doença na fase de erradicação por

meio da detecção de rebanhos infectados, também denominadas focos. Um sistema de vigilância pode ser entendido como um conjunto de ações que visa detectar de uma forma inteligente os focos da doença. Para o gado de corte o sistema apóia-se no soro diagnóstico em animais de reprodução, e os pontos estratégicos para colheitas são os matadouros, os leilões, as exposições, os rodeios e as feiras. Adequada identificação dos animais permite o rastreamento das propriedades foco. No caso do gado de leite, pode-se vigiar toda uma região pelo TAL aplicada a amostras de leite colhidas nas plataformas de recepção dos laticínios. Os rebanhos identificados pelo TAL são submetidos à sorologia individual e havendo animais positivos são conduzidos às ações de saneamento (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

Com uma cobertura vacinal em torno de 80%, ou seja, quando cerca de 80% das fêmeas em idade de procriar de uma população estiver vacinada - a frequência de animais infectados será bastante baixa. Portanto, uma diminuição importante da prevalência pode ser obtida utilizando um bom programa de vacinação. Por essa razão a vacinação deve ser priorizada nas fases iniciais do programa, quando as prevalências são elevadas. A eliminação das fontes de infecção, feita por meio de uma rotina e teste de diagnóstico com sacrifício dos positivos, é a base das ações que visam à criação de propriedades livres da doença (BRASIL, 2004).

A implantação do PNCEBT de 2001 tornou obrigatória a vacinação de todas as fêmeas da espécie bovina entre três e oito meses de idade com amostra de B19. As bezerras vacinadas, são identificadas com um “V” no lado esquerdo da cara (MARQUES, 2003) e com um “P” para os animais regentes positivo do lado direito a cara (BRASIL, 2004). Os machos são excluídos da vacinação, já que neles pode acarretar em uma orquite e persistência por mais tempo dos títulos de vacinação que nas fêmeas (BEER, 1999).

O saneamento das propriedades que entram em processo de certificação no PNCEBT será feito testando todos os animais e sacrificando os reagentes positivos. A adesão ao programa de certificação é voluntária e os testes em todo o rebanho serão repetidos até obter três testes sem um único animal positivo, ao longo de um período mínimo de nove meses. Uma vez terminado o saneamento, a propriedade obtém o certificado de livre, cuja manutenção depende do cumprimento de todas as regras e normas sanitárias estabelecidas. As propriedades certificadas ficam obrigadas a repetir os testes anualmente, em todos os animais. Deve destacar-se a exigência de dois testes negativos para o ingresso de animais na propriedade se os animais não forem

provenientes de outra propriedade livre. Os testes de diagnóstico para brucelose são realizado exclusivamente em fêmeas de idade igual ou superior a 24 meses, desde que vacinadas entre três e oito meses, e em machos e fêmeas não vacinados, a partir dos 8 meses de idade (BRASIL, 2004).

A prevenção da brucelose humana é obtida pela educação sanitária dos profissionais mais expostos, pela pasteurização dos produtos lácteos, evitando a contaminação da população e pelo controle da doença nos animais infectados (RIET-CORREA et al., 2001).

O tratamento para brucelose animal não é recomendado, pois existe grande risco de fracasso, devido à presença intracelular da bactéria que impede os antibióticos de alcançarem concentrações ótimas (RIET-CORREA et al., 2001). Todos os animais susceptíveis em idade reprodutiva devem ser testados antes de serem introduzidos no rebanho e mantidos em quarentena (COTTORRELLO, 2002).

Um aparecimento de novos casos de brucelose em bovinos vacinados varia amplamente, dependendo de vários fatores, tais como: quantidade do agente infectante, patogenicidade do mesmo e condições imunológica dos animais particularmente após vacinação com vacina com doses baixas. Esta imunidade é descrita como uma imunidade relativa, pois previne a infecção após a exposição a pequeno ou moderado número de microrganismo, mas teria inabilidade de prevenir a mesma, quando a exposição é realizada com grande quantidade de microrganismo virulento (CORREA; CORREA, 1992).

Algumas medidas são fundamentais para o sucesso de um programa de controle ou erradicação da brucelose bovina são: técnicas de diagnóstico viáveis, cooperação e esforços conjuntos entre médicos veterinário e laboratório de diagnóstico, registros precisos, educação de fazendeiros e da comunidade, estabelecimento de medidas de manejo da enfermidade, controle do movimento de bovinos, eliminação permanente de animais infectados e a vacinação de bezerras com três a oito meses de idade (ALMEIDA, 2004).

2.10. Brucelose no homem

A Brucelose em humanos consiste de um problema sério e real sendo transmitida para seres humanos a partir de animais infectados através do consumo

principalmente de leite cru e seus derivados não pasteurizado (MAFRA, 1995). Sendo uma doença ocupacional atinge principalmente profissionais como magarefes, fazendeiros, funcionários de laticínios e médicos veterinários que manipulam ou que possam ter contato com os microorganismos (OSORIO et al., 2008). Inquéritos sorológicos revelam que no Brasil existe uma taxa de infecção de 6 a 20% em empregados de matadouros e frigoríficos localizados em diferentes pontos do país (BIER, 1941).

Os humanos são susceptíveis à infecção por *Brucella abortus*, *B. suis*, *B. melitensis* e *B. canis* sendo transmitida para humanos por contato com secreções ou excreções de animais infectados. As rotas de entrada incluem lesões na pele, inalação e ingestão de alimentos contaminados. Acidentes laboratoriais são responsáveis por algumas infecções. A brucelose é conhecida como febre ondulante, apresenta-se como pirexia flutuante, mal-estar, fadiga e dores musculares e articulares. Abortos não são característicos para infecções em humanos sendo a osteomielite a complicação mais comum. Infecções severas ocorrem por *Brucella melitensis* e por *B. suis* biótipos 1 e 2. As infecções em humanos por *B. abortus* são moderadamente graves, enquanto aquelas causadas por *B. canis* tendem a ser moderadas. (QUINN et al., 2005).

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 (CORREA; CORREA, 1992).

Em geral o tratamento é feito pela administração de associações de antibióticos por seis semanas, as drogas mais utilizadas são: tetraciclinas, doxiciclina e rifampicina (BRASIL, 2004)

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

Os animais utilizados foram da espécie bovina, machos e fêmeas coletados aleatoriamente no momento do abate, no matadouro público da cidade de Santa Cruz Rio Grande do Norte no período de dezembro 2007 a fevereiro de 2008.

3.2. 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 amostras utilizadas foi de 297.

3.3. Colheita das amostras

As amostras foram colhidas em tubos coletores devidamente numerados e catalogados identificando data da coleta e sexo do animal, após a sangria dos animais, já em decúbito lateral esquerdo ou direito. No ato seguinte os tubos eram acondicionados em isopor e levados imediatamente após a coleta para refrigeração e mantidos entre 2 a 8 °C para a retração do coágulo. Em seguida os soros sanguíneos eram retirados, transferidos para microtubos de polipropileno (tipo Eppendorf) que recebiam a mesma numeração e congelados para serem processados posteriormente no Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em Patos, PB.

3.4. Diagnóstico

3.4.1. Diagnóstico sorológico

O teste utilizado foi o do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), sendo este uma prova de triagem, rápida, prática de alta sensibilidade. (VASCONCELOS et al., 1987).

3.4.2. 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.

3.4.3. Metodologia do teste

1. Os soros e o antígeno foram equilibrados à temperatura ambiente por 30 minutos. Os soros foram homogeneizados antes da realização da prova.

2. Foi utilizado o micropipetador de 30 μ l para dispensar essa quantidade de soro por área da placa de vidro, encostando nela a ponta da pipeta em ângulo de 45°.

3. O antígeno foi suavemente agitado e colocado 30 μ l ao lado do soro, sem ser nele misturado.

4. 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.

5. Promoveu-se movimentos oscilatórios contínuos na placa durante quatro minutos, para permitir que a mistura soro-antígeno flua lentamente dentro de cada círculo.

6. A placa foi colocada na caixa de luz indireta para realização da leitura.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras processadas foram negativas ao AAT resultados que assemelham com os encontrados no município em Tabuleiro Grande (CAVALCANTE 2004), no município de Riachuelo e Severaino Melo (CAVALCANTI, 2005; CASTRO, 2003) ambos no Rio Grande do Norte.

Resultados diferentes foram encontrados no município de Castro –PR com prevalência de 29,92 % (PALMQUIST, 2000), em Andradina- SP 5% (SANTOS, 2003), na micro região da serra de Botucatu- SP foi de 3,7%(KURODA, 1998) e em Patos- PB a prevalência total foi 2,2% (LEITE, 2007).

Assim, pode-se afirmar que no período estudado a soro prevalência no município de Santa Cruz foi igual a zero, com 95% de confiança vale salientar que outros trabalhos deverão ser feitos levando em consideração bovinos de outras regiões que são abatidos no município e que não foram incluídos neste experimento.

Um fator importante que pode ter contribuído para este resultado é o sistema de criação adotado no município e o não processamento de amostras de animais procedentes de outras regiões e abatidos no mesmo matadouro. Os produtores de Santa Cruz fazem cria e recria e a comercialização ocorre dentro do município. A aquisição de animais de outras localidades, quando ocorre, é feita pr meio de financiamentos rurais que exigem no seu contrato a emissão de atestado negativo de brucelose e tuberculose. Vale salientar que nenhuma das fêmeas apresentaram a marca de vacinação com “V” do lado esquerdo da cara. E nenhum dos estabelecimentos comerciais vende a vacina B19.

O maior risco para as comunidades seria o consumo de leite cru e seus derivados. Já o foco das atenções da doença em humanos estaria na população de profissionais sendo eles magarefes, fazendeiros, funcionários de laticínios e médicos veterinários que manipulam ou que possam ter contato com os microorganismos podendo infectar-se e gerar problemas sérios uma vez que a doença não é tratada com a devida importância por médicos humanos complicando seu diagnóstico. Necessário se faz a realização de novos trabalhos com magarefes da região para observar se a doença esta presente em profissionais da região.

Vale salientar a importância de todos os trabalhos de levantamento sorológico pois eles servem como ferramenta para avaliação do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose.

5. CONCLUSÃO

Não foram encontrados animais soro positivos procedentes e abatidos no município de Santa Cruz no período de estudado a prevalência da brucelose bovina no município, foi zero, com 95% de confiança.

6. REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Brucelosis 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, 1986. 14-35p.

ALMEIDA, L. R. **Prevalência e Fatores de Risco Associados a Brucelose Bovina em Rebanhos de Mato Grosso do Sul** : Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Programa Mestrado em Ciência Animal, 2004. 27p.

ALTON, G. G.; JONES L. M.; ANGUS R. D.; VERGUER J. M. Bacteriological methods In: INRA, **Techniques for the brucellosis laboratory**, Paris, 1988. 190p.

BATHKE, W. Brucellosis. In: BEER, J. (Editor). **Doenças infecciosas em animais domésticos: doenças causadas por vírus, clamídias, rickettsiose, micoplasmose**. Roca: São Paulo, v. 2, 1988.144 a 160p

BIER, O. **Microbiologia e imunologia** 24ª edição, Melhoramentos, 1941. 1234p

BEER, J. **Doenças infecciosas em Animais Domésticos: doenças causadas por vírus, clamídias, rickettsiose, micoplasmose**. São Paulo, Roca v.2 , 1999. 380p.

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, 1994. 1053-1066p.

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, 2004. 133p.

BOSCHIROLI, M.; FOULONGNE, V.; O'CALLAGHAN, D. **Brucellosis: a worldwide zoonosis**. **Current Opinion in Microbiology**, v. 4, 2001. 58-64p.

CARTER, G. R; CHENGAPPA, M. M . **Essentials of veterinary bacteriology and mycology**. 4 ed, Philadelphia: London, 1991.196-291p.

CASTRO, P. P. N. **Soro prevalência de Brucelose Bovina no Município de Severiano Melo**. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária)- Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 2003. 50p. a

CAVALCANTE, C. B. **Ocorrência de Brucelose em bovinos no Município de Tabuleiro Grande** . Monografia (Graduação em Medicina Veterinária)- Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 2004 .25p

CAVALCANTI, M. L. **Prevalência de Brucelose Bovina no Município de Riachuelo – RN**, Monografia (Graduação em Medicina Veterinária)- Escola Superior de Agricultura de Mossoró 2005, 27p.

CORRÊA O. **Doenças infecciosas dos animais domésticos** . Vol. 1 2ª edição doenças causadas por bactérias . Livraria Freitas Bastos S.A Folha Carioca . Rio de Janeiro 1975. 229p.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidade Infecciosas dos Mamíferos Domésticos**. 2ª ed.,Rio de Janeiro: Ed. Medsi, 1992. 195- 216p.

COTTORRELLO, A. C. P. **Brucellosis. National Security e Emergency Preparedness (NSEP)**. EUA 2002. disponível em <http://www.vet.uqa.edu/upp/nse/brasil2002/brucella/port/incidence.htm>. Acesso em 10 de janeiro de 2008.

GUARINO, A.; SERPE, L.; FUSGO, G.; SCARAMUZZO, A.; GALLO. **Detection of brucella species in buffalo whole blood by gene- specific PCR**. Vet. Rec. 2000, 147p.

ITO, F. H. ; V ASCONCELLOS S. A.; BERNARDO, F.; NASCIMENTO, A. A.; LABUNA, M. B.; ARANTS, I. G.; **Evidencia sorológica de brucelose e leptospirose**

e parasitismo por ixodídeos em animais silvestres do pantanal Ars. Veterinária, 1998.302 – 310p.

KURODA, R. B. S. **Prevalência da Brucelose bovina na micro região da serra de Botucatu**. Universidade Estadual de São Paulo, Faculdade de medicina veterinária e zootecnia, 1998. 6p.

LAPRAIK, R. D. BRUCELLOSIS : **A study of Five calves reactor dams**.vet rec97, 1975. 52-54p.

LEITE, JANAYRA MAGALHÃES. **Soroprevalência de Brucelose em bovinos abatidos no Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba**. Monografia (Conclusão do curso de Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Patos, 2008. 40p.

LOPES- M E R I N O , A. 2004. Brucella. <http://www.biblioweb,dgsca.unam.mx/libros/microlibros/cap.7/> acessado em outubro de 2007 as 16:00

MARQUE, D. C. **Criação de bovinos. Belo Horizonte** : 7 ed. 2003. 586p.

MARTINS, C.; IMPROTA, C. T. R.; KIRINOS, L. C. C. **Diagnostico de Situação Educativo – Epidemiológico da Brucelose na Espécie Bovina**, CIDASC- SC Florianópolis, 1996. 37p.

METCALF, H. E.; LUCHSINGER, D . W.; RAY, W. C 1994 . **Brucellosis. In: Beran G.W E Steele J.H. (ed.) Handbook of zoonoses section A: Bacterial** 2 ed. CRC Press, Boca Raton, 1994 . 9- 39p

MAFRA, P. **Impacto da Brucelose no Ambiente e Saúde Publica**. Departamento de Ciências da Natureza da Escola Superior de Educação de Bragança, 1995. 9p

MOLNÁR, L.; MOLNAR E.; TURY, E.; SOUZA, J. S. **Concepções modernas para o diagnóstico de brucelose**. Revista brasileira de medicina veterinária, 1997. 157-162p

NIELSEN, K. **Diagnosis of Brucellosis by serology.** *Veterinary Microbiology*, v.90, n.1, 2002. 447-59p.

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.** In: LEITE, J. L. **Soroprevalência de brucelose em bovinos abatidos no matadouro público Patos Paraíba.** Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande – Patos, 2008 40p.

PALMQUIST, O. K. **Contribuição para a incidência da brucelose no estado do Paraná (Brasil):** *Brazilian Archives of biology and technology*, 2000. 3p

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

POESTER F. P.; GONÇALVES V. S. P.; LAGE, A. P. **Brucellosis in Brasil** *vet. Microb.* 2002. 55-62p.

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

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

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

ROSS, H. M.; FOSTER, G.; REID, R. J.; JAHANS, K. L.; MACMILLAN, A. P. **Brucella species infection in sea mammals.** *Veterinary Record* , 1994. 359p.

SANTOS, J. F.; **Contribuição para o controle de brucelose e tuberculose no município de Andradina São Paulo, 2003. 6p.**

SOUZA, A. E.; MORAIS, F. D. C.; FÁVERO, M. **Investigação de Brucelose em Bovinos e em consumidores Humanos de Leite.** Revista de Saúde Publica. V.11, n.2, 1997. 238-247p.

TEIXEIRA, A. C. **Brucelose bovina em machos: prevalência a nível de matadouro em quatro microrregiões homogêneas do Rio Grande do Sul .** In XV PANET; XV congresso Pan- Americano de Ciências Veterinária. 1996. **anais.** 240p.

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

TIMONEY, J. H.; SCOTT, F. W.; BARLOUGYH, J. E. **Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals.** London: Comstock Publishing Associates. Divison of Cornell University Press, 1988. 135- 144p.

VASCONCELLOS, S. A. **Bases para prevalência da brucelose animal, Comun. cient. Fac. Med. Vet. Zootec. São Paulo, 1987, 11p.**