



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

Giovanni Brito Medeiros

**Situação epidemiológica da brucelose bovina no estado
do Rio Grande do Norte.**

Patos-PB

2023

Giovanni Brito Medeiros

**Situação epidemiológica da brucelose bovina no estado
do Rio Grande do Norte.**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência e Saúde Animal.

Prof. Titular Dr. Clebert José Alves

Patos-PB

2023

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado Bibliotecas – SISTEMOTECA/UFMG

M488s

Medeiros, Giovanni Brito

Situação epidemiológica da brucelose bovina no estado do Rio Grande do Norte. / Giovanni Brito Medeiros. – Patos, 2023.
106 f.

Orientador: Clebert José Alves.

Doutorado (Tese) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Curso de Doutorado em Ciência e Saúde Animal.

1. *Brucella* spp. 2. Brucelose. 3. Vacinas B19 e RB51. 4. Bovinos. I. Alves, Clebert José, *orient.* II. Título.

CDU 619:614.91:636.2

Bibliotecário-documentalista: Bárbara Costa – CRB 15/806



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
POS-GRADUACAO EM CIENCIA E SAUDE ANIMAL
Rua Aprigio Veloso, 882, - Bairro Universitario, Campina Grande/PB, CEP 58429-900

REGISTRO DE PRESENÇA E ASSINATURAS

ATA DA DEFESA DE TESE

Aos 24 dias do mês de agosto do ano de 2023, às 08h30min, sob a presidência do(a) Professor(a) Doutor(a) Clebert José Alves, por meio de videoconferência na plataforma Google Meet, reuniram-se os Professores Doutores Sérgio Santos de Azevedo, Clécio Henrique Limeira, Flávio Ribeiro de Araújo e Inácio José Clementino, para participarem da banca de Tese do(a) discente Giovanni Brito Medeiros. O resultado da Tese intitulada: “Situação epidemiológica da brucelose bovina no estado do Rio Grande do Norte, Brasil”, foi considerado APROVADO. Do que, para constar, eu, orientador, lavrei a presente Ata, que depois de lida e aprovada, vai assinada por mim e com anuência dos demais membros da banca examinadora.

PROF(A). DR(A). CLEBERT JOSÉ ALVES

Presidente e Orientador

PROF(A). DR(A). SÉRGIO SANTOS DE AZEVEDO

Examinador Interno

DR(A). CLÉCIO HENRIQUE LIMEIRA

Examinador Externo

DR(A). FLÁBIO RIBEIRO DE ARAÚJO

Examinador Externo

PROF(A). DR(A). INÁCIO JOSÉ CLEMENTINO

Examinador Externo

PROF(a). DR(a). ANTÔNIO FERNANDO DE MELO VAZ

Coordenador do PPGCSA

OBSERVAÇÕES:

1 - Por não possuir cadastro como usuário externo no SEI, o examinador Flávio Ribeiro de Araújo receberá cópia da presente Ata e dará ciência e aprovação dos termos por e-mail.

2 - Os examinadores internos signatários certificam que o examinador externo acima identificado participou da defesa da tese e tomou conhecimento do teor deste documento.



Documento assinado eletronicamente por **CLECIO HENRIQUE LIMEIRA, Usuário Externo**, em 24/08/2023, às 11:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **SERGIO SANTOS DE AZEVEDO, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 24/08/2023, às 11:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **Inácio José Clementino, Usuário Externo**, em 24/08/2023, às 11:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **Clebert Jose Alves, Usuário Externo**, em 24/08/2023, às 11:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **ANTONIO FERNANDO DE MELO VAZ, COORDENADOR(A)**, em 28/08/2023, às 07:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **3709096** e o código CRC **86F7576E**.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da vida e pelas oportunidades que o mesmo tem colocado em meu caminho.

A meus pais (*in memorian*) e irmãos, pela família constituída e respeito mútuo entre nós; e também pelo estímulo ao conhecimento.

A minha esposa, amiga, companheira Maria da Paz Medeiros (Aninha) por todo apoio e paciência e, de forma especial, a nossa filha Laurinha.

À UFCG, por mais uma vez me proporcionar este aperfeiçoamento profissional.

Ao professor, e orientador, Clebert José Alves por ter acreditado e me acatado como orientando nesta jornada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, demais professores e colegas de Curso deste PPGCSA pela convivência e conhecimentos adquiridos.

Aos componentes da banca por aceitarem o convite e por suas valiosas contribuições.

Aos demais colegas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO	09
ABSTRACT	10
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	13
LISTA DE SÍMBOLOS	14
INTRODUÇÃO GERAL	15
REFERÊNCIAS	16
CAPÍTULO I	18
RESUMO	19
ABSTRACT	20
1 INTRODUÇÃO	20
2 MATERIAL E MÉTODOS	23
2.1 Área de estudo e seleção dos estabelecimentos	23
2.2 Obtenção das amostras	24
2.3 Teste Molecular	25
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
CONCLUSÕES	28
AGRADECIMENTOS	29
REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	29
CAPÍTULO II	32
<i>ABSTRACT</i>	32
<i>1. INTRODUCTION</i>	34
<i>2. MATERIAL AND METHODS</i>	35
<i>2.1 Eligibility criteria and 42search strategies</i>	35
<i>2.2 Screening process and selection of articles</i>	36
<i>2.3 Data extraction and analysis</i>	36
<i>3. RESULTS</i>	36
<i>4. DISCUSSION</i>	42
<i>5. CONCLUSIONS</i>	45
<i>References</i>	45

CAPÍTULO III	48
RESUMO	49
ABSTRACT	50
1 INTRODUÇÃO	51
2 MATERIAL E MÉTODOS	52
2.1. Área de estudo	53
2.2. População estudada	53
2.3. Análise estatística	53
3 RESULTADOS	54
4 DISCUSSÃO	56
CONCLUSÕES	59
Agradecimentos	60
Referências bibliográficas	60
CONCLUSÃO GERAL	62

RESUMO

A brucelose é uma doença transmissível e de grande importância: tanto por seu aspecto socioeconômico quanto pelo da saúde pública, podendo afetar significativamente o comércio de produtos, principalmente leite e seus derivados. A bovinocultura leiteira no Rio Grande do Norte impacta fortemente o campo socioeconômico estadual, haja vista uma significativa parcela dessa produção ser oriunda de agricultura familiar. O primeiro capítulo desta tese contém um artigo cujo objetivo foi um estudo de vigilância molecular como ferramenta para detectar *Brucella* spp., em leite in natura e queijos artesanais de agro indústrias familiares no Rio Grande do Norte, Brasil. Foram amostradas 18 amostras de leite cru e 18 amostras de queijo coalho, submetidas à reação em cadeia da polimerase (PCR). Não se constatou o DNA de bactérias do gênero *Brucella* spp. nas amostras estudadas. Atribui-se a não detecção de DNA nas amostras pesquisadas a fatores sugestivos, tais como: a maior parte dos animais serem não reagentes para brucelose (teste triagem Rosa Bengala); e, também, pelo fato do Estado registrar imunização antibrucélica muito abaixo do preconizado. O resultado negativo não preconiza a real situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado; todavia, evidencia esses alimentos como seguro em relação à bactéria pesquisada. No capítulo II objetivou-se conhecer como o Rio Grande do Norte-RN tem desenvolvido suas ações junto ao Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), enfatizando-se a imunização antibrucélica de seus bovinos. O estudo analisou e comparou dados secundários obtidos junto aos serviços veterinários oficiais, cujos índices vacinais alcançados estão aquém da meta preconizada e alcançada em nível nacional (80%), variando de 2,94% em 2015 a 51,64% em 2019. Sugerindo ser imprescindível que o Estado realinhe seu compromisso como gestor público e fortaleça seu serviço veterinário para melhor executar as ações do Programa. Por fim, o capítulo III é composto por uma revisão sistemática de literatura, por síntese qualitativa, sobre a ocorrência de contaminação de humanos por cepas vacinais antibrucélicas B19 e RB51. Utilizou-se a metodologia PRISMA, para a pesquisa primária de literatura científica, em cinco bases eletrônicas de dados: Pubmed, Science Direct, Scopus, Web of Science e Scielo. São raros os estudos publicados; sendo a maioria (06/10) dos textos selecionados incluídos na modalidade “relato de caso” e oriundos de países de 04 continentes: América (Argentina, Brasil e Estados Unidos); Ásia (Turquia) e África (Sudão).

PALAVRAS-CHAVE: *Brucella* spp., brucelose, vacina B19 e RB51, saúde única.

ABSTRACT

Brucellosis is a transmissible disease of great importance: both for its socioeconomic aspect and for public health, and it can significantly affect the trade of products, mainly milk and its derivatives. Dairy cattle farming in Rio Grande do Norte has a strong impact on the state's socioeconomic field, given that a significant portion of this production comes from family farming. The first chapter of this thesis contains an article whose objective was a study of molecular surveillance as a tool to detect *Brucella* spp., in fresh milk and artisanal cheeses from family agribusinesses in Rio Grande do Norte, Brazil. In total, 18 samples of raw milk and 18 samples of coalho cheese were sampled, using polymerase chain reaction (PCR). The non-detection of DNA in the researched samples is attributed to suggestive factors, such as: most of the animals being non-reactive for brucellosis (Rose Bengal screening test); and, also, due to the fact that the State registers anti-brucella immunizations much lower than recommended. The negative result does not reflect the real epidemiological situation of bovine brucellosis in the State; however, it evidences that analyzed foods as safe in relation to the researched bacteria. In chapter II, the objective was to know how Rio Grande do Norte-RN has developed its actions with the National Program for the Control and Eradication of Brucellosis and Tuberculosis (PNCEBT), emphasizing the anti-*Brucella* immunization of its cattle. The study analyzed and compared secondary data obtained from official veterinary services, whose vaccination rates achieved are below the recommended target and achieved at the national level (80%), ranging from 2.94% in 2015 to 51.64% in 2019. Suggesting that the State realigns its commitment as a public manager and strengthens its customer service to better execute the Program's actions. Finally, the chapter III is composed of a systematic literature review, by qualitative synthesis, on the occurrence of infection in humans by anti-*Brucella* vaccine strains S19 and RB51. The PRISMA methodology was used for the primary search of scientific literature in five electronic databases: Pubmed, Science Direct, Scopus, Web of Science and Scielo. About this the published studies are rare; the majority (06/10) of the selected texts included in the "case report" modality and coming from countries of 04 continents: America (Argentina, Brazil and United States); Asia (Türkiye) and Africa (Sudan).

KEYWORDS: *Brucella* spp., brucellosis, S19 and RB51 vaccine, one health.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Table 01 - Main information from the studies included in the systematic review on the occurrence of human' s infection by anti-Brucella vaccine - S19 and RB51 strains.	39
--	----

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

- Figure 1 – Standardized architectural structure and stainless equipment of Family agro industries, producers of artisanal coalho cheeses, in the state of Rio Grande do Norte, Brazil.23
- Figure 2 – Agro family industries, producers of artisanal coalho cheeses, in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. 24

CAPÍTULO II

- Figure 1 – Flowchart of search and selection of studies on human infection by accidental exposure to anti-Brucella vaccines, S19 and RB 51 strains 37
- Graph 1 – Vaccination coverage rate (%) with the S19 vaccine, from 2015 to 2019, of bovine females aged up to 12 months in the State of Rio Grande do Norte, Brazil 35

CAPÍTULO III

- Figura 1 – Distribuição do Serviço Veterinário Estadual (SVE), segundo ULSAV, no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil 54
- Figura 2 – População de bezerras com idade até 12 meses e sua proporção estimada segundo a ULSAV, de 2015 a 2019, aptas a serem vacinadas contra a vacina B19 no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. 54
- Figura 3 – Quantitativo de bezerras vacinadas e taxa de cobertura vacinal (cepa B19) segundo ULSAV, de 2015 a 2019, no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil.55
- Gráfico 1 – Taxa de cobertura vacinal com a vacina B19, de 2015 a 2019, de fêmeas bovinas com idade até 12 meses no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil.56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-ME	Mercapto-2 Etanol
CSTR	Centro de Saúde e Tecnologia Rural
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DSPNCEBT	Diagnóstico Situacional do PNCEBT
FC	Fixação de Complemento
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDIARN	Instituto de Defesa e Inspeção Agropecuária do Rio Grande do Norte
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil
LTDA	Limitada
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
mL	Mililitro
mm	Milímetro
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
PRISMA	<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analysis</i>
PNCEBT	Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RBT	Teste Rosa Bengala
RN	Rio Grande do Norte
RNA	Ácido Ribonucleico
SAT	Soro Aglutinação Teste
SEBRAE	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
SEPLAN-RN	Secretaria de Estado de Planejamento-RN
SIAPEC	Sistema de Integração Agropecuária
.spp	Espécies (de um mesmo gênero microbiano)
UF	Unidade Federativa
UFMG	Universidade Federal de Campina Grande
ULSAV	Unidade Local de Sanidade Animal e Vegetal

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
\leq	Menor ou igual
\geq	Maior ou igual
$<$	Menor que
$>$	Maior que
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
+	Positivo

INTRODUÇÃO GERAL

A brucelose é uma doença zoonótica causada por bactérias do gênero *Brucella*, que são cocobacilos Gram negativos, havendo registros de sua ocorrência em mais de 170 países de diferentes regiões ao redor do mundo. Nos bovinos, esta infecção é predominantemente causada pela *B. abortus*, menos frequentemente por *B. melitensis* e, ocasionalmente, por *B. suis* (OIE, 2018). A brucelose bovina é considerada como uma doença transmissível de grande importância tanto por seu aspecto socioeconômico quanto pelo da saúde pública. A infecção de humanos por bactérias do gênero *Brucella* spp., através do consumo de produtos lácteos, representa um sério perigo biológico, com grande importância para a saúde única (BÉJAOURI; BEN ABDALLAH; MAAROUFI, 2022). Por outro lado, os impactos negativos dessa doença na pecuária incluem a redução na produção de leite, redução da conversão alimentar do rebanho, abortos, infertilidade e mortalidade das fêmeas que abortam, mortalidade perinatal, aumento dos intervalos de partos e, ainda, maior necessidade de reposição dos animais (ALVES et al., 2015)

A prevenção da brucelose no homem depende, sobretudo, do controle ou erradicação da doença nos animais (LAWINSKY et al., 2010). A vacinação é uma medida eficaz para reduzir a prevalência da brucelose nos animais e tem contribuído enormemente para o sucesso de muitos programas de controle desta doença (DORNELES et al., 2015). No Brasil, em 2001, foi instituído o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), com o objetivo de reduzir os impactos negativos da doença na saúde pública e promover uma maior competitividade da pecuária nacional (BRASIL, 2017), o qual preconiza a vacinação de fêmeas bovinas como uma das medidas de controle da doença.

A imunização de bezerras, com a vacina B19, gera resultados econômicos vantajosos, como relatado por Ferreira (2023) no estado de Rondônia, região Norte do Brasil. Atualmente, as cepas vacinais de *B. abortus* – cepa B19 e RB51 – são os imunobiológicos com reconhecimento oficial no Brasil e o Programa oficial adota diferentes estratégias de imunização: a vacinação é obrigatória em bezerras jovens com idade entre 3 e 8 meses - com a cepa B19; e a demais fêmeas, incluindo as que não foram vacinadas nessa idade, utilizando a vacina RB51. São produtos eficazes e fundamentais no controle da brucelose bovina; porém, patogênicas ao homem (PEREIRA et al., 2020).

A pecuária leiteira no Estado do Rio Grande do Norte é uma atividade de grande importância econômica e social, haja vista que 79% dos estabelecimentos agropecuários se dedicam a esta atividade; do total de leite ordenhado no estado, 44% são produzidos pela agricultura familiar e os outros 56% por produtores de médio e grande porte. O RN é um estado que produz queijos artesanais, merecendo destaque a produção artesanal dos queijos de coalho e de manteiga, além da manteiga de garrafa. Sabe-se que, de modo geral, essa atividade leiteira praticada pela agricultura familiar se caracteriza pelo baixo nível tecnológico adotado – manejos sanitários, nutricional e reprodutivo – ao contrário de parte dos produtores não familiares, os quais já adotam práticas de produção que lhe proporcionam maior competitividade no mercado (LAC, 2016).

Numa perspectiva voltada para a Saúde Única (*One Health*) a presente tese é composta por três capítulos. O primeiro capítulo contém um artigo cujo objetivo foi de utilizar a vigilância molecular, por meio da PCR, como ferramenta para detectar *Brucella* spp., em leite *in natura* e queijos de Coalho artesanais no Rio Grande do Norte, Brasil; o qual será submetido ao periódico *Preventive Veterinary Medicine*. O capítulo segundo traz um estudo onde se buscou conhecer e analisar os esforços direcionados pelo Estado do Rio Grande do Norte para imunizar suas bezerras com idade de 3 a 8 meses; além disso, sugerir adequações ao serviço veterinário estadual – IDIARN, Instituto de Defesa e Inspeção Agropecuária do Rio Grande do Norte – para que sejam atingidos melhores resultados no controle da brucelose animal; esse texto está submetido ao periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, aguardando publicação. E, por fim, o terceiro capítulo contém um estudo cujo objetivo foi realizar uma síntese qualitativa através de uma revisão sistemática de literatura acerca da ocorrência de contaminação de humanos por cepas vacinais antibrucélicas B19 e RB51; este será submetido ao periódico *Reports in Public Health*.

REFERENCIAS

ALVES JÚNIOR, J. A. **BRUCELOSE EM BOVINOS NO ESTADO DA PARAÍBA (2006 – 2015)**. [s.l.] UFPB, 2017.

BÉJAOU, A.; BEN ABDALLAH, I.; MAAROUFI, A. *Brucella* spp. Contamination in Artisanal Unpasteurized Dairy Products: An Emerging Foodborne Threat in Tunisia. **Foods**, v. 11, n. 15, 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 10, de 03 março de 2017. **Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal. Diário Oficial da União, Brasília DF. 20 jun. 20.** Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>.

BRASIL. **Diagnóstico Situacional do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT.** 1ª ed. Brasília-DF: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2020.

DORNELES, E. M. S.; SRIRANGANATHAN, N.; LAGE, A. P. **Recent advances in Brucella abortus vaccines.** Veterinary Research, v. 46, n. 1, p. 1–10, 2015.

FERREIRA, B. F. S. et al. **Economic analysis of bovine brucellosis control in the Rondônia state, Brazil.** Tropical animal health and production, v. 55, n. 3, p. 225, 25 maio 2023.

LAC, C. N. K. **Diagnóstico e planejamento estratégico para o desenvolvimento de atividades produtivas agrícolas do Rio Grande do Norte.** RN SUSTENTÁVEL. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.rnsustentavel.rn.gov.br/smiv3/site/conteudos/midias/f4d69d8f19e0f0eb25865c75235bfb77.pdf>>. Acesso em: 17 nov. 2018.

LAWINSKY, M. L. DE J. et al. **Estado da arte da brucelose em humanos.** Revista Pan-Amazônica de Saúde, v. 1, n. 4, p. 75–84, dez. 2010.

OIE. Brucellosis (Infeccion with B. abortus, B. melitensis and B. suis). Em: **OIE Terrestrial Manual, Chapter 3.1.4.** Geneva, Switzerland.: OIE, 2018. p. 355–398.

PEREIRA, C. R. et al. **Accidental exposure to Brucella abortus vaccines and occupational brucellosis among veterinarians in Minas Gerais state, Brazil.** Transboundary and Emerging Diseases, 2020.



Molecular surveillance as a tool to detect *Brucella* spp. in milk and artisanal cheeses in Rio Grande do Norte, Brazil

Journal:	<i>Pesquisa Veterinária Brasileira</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Brito Medeiros, Giovanni; Universidade Federal de Campina Grande Bezerra Neto, Pirajá; UFCG Silva, Maria Luana; UFCG, Limeira, Clécio; UFCG, Centro de Formação de Professores Araújo, Flávio; Embrapa Gado de Corte, Azevedo, Sergio; Universidade Federal de Campina Grande, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária Alves, Clebert; Universidade Federal de Campina Grande, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária
Area:	Livestock Diseases
Keyword:	coalho cheese; raw milk; <i>Brucella</i> spp; safe food; One health.

SCHOLARONE™
Manuscripts

Vigilância molecular como ferramenta para detectar *Brucella* spp. em leite e queijos artesanais no Rio Grande do Norte, Brasil.

Molecular surveillance as a tool to detect *Brucella* spp. in milk and artisanal cheeses in Rio Grande do Norte, Brazil.

Giovanni Brito Medeiros, Pirajá Saraiva Bezerra Neto, Denize Monteiro dos Santos, Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva; Clécio Henrique Limeira, Flávio Ribeiro de Araújo, Sérgio Santos de Azevedo, Clebert José Alves

RESUMO

Introdução: Realizou-se um estudo para se caracterizar a situação epidemiológica do microrganismo patogênico *Brucella* spp. em leite *in natura* e queijos de coalho artesanal provenientes de agro indústrias familiares produtoras de queijos, no Nordeste Brasileiro. Os produtos de origem animal, como lácteos e seus derivados, podem contribuir para o surgimento de doenças em humanos; principalmente quando obtidos de animais infectados e que não tenham sido submetidos a tratamento térmico. As bactérias do gênero *Brucella* spp. representam um perigo biológico e com grande importância para a saúde única. **Metodologia:** Foram amostradas 18 amostras de leite cru e 18 amostras de queijo coalho, submetidas à reação em cadeia da polimerase (PCR) com primer genérico para *Brucella* spp, forward 5'- TCAGGCGCTTATAACCGAAG-3' e reverse 5'- ATCTGCGCATAGGTCTGCTT-3'. **Resultados:** Não se constatou o DNA de bactérias do gênero *Brucella* spp. nessas 18 amostras de leite e 18 amostras de queijo. **Discussão:** Atribui-se a não detecção de DNA nas amostras pesquisadas a fatores sugestivos, tais como: a maior parte dos animais já terem sido testados para brucelose (teste triagem Rosa Bengala) com resultados não reagentes; e, também, pelo fato do estado do Rio Grande do Norte registrar imunização antibrucélica muito baixa ($\leq 5\%$) até o ano de 2018, geração em que se encontram as atuais matrizes testadas. **Conclusões:** O resultado negativo não preconiza a real situação epidemiológica da brucelose bovina no Rio Grande do Norte; contudo, evidência a qualidade dos queijos de coalho fabricados e comercializados na região estudada, podendo ser considerado seguro em relação à bactéria pesquisada.

Palavras-chave: queijo de coalho; leite *in natura*; *Brucella* spp; alimento seguro; saúde única.

ABSTRACT

Introduction: A study was carried out to characterize the epidemiological situation of the pathogenic microorganism *Brucella* spp. in raw milk and artisanal *coalho* cheese from family cheese-producing agro-industries in Northeast Brazil. Animal products, such as dairy products and their derivatives, can contribute to the development of diseases in humans; especially when they are obtained from infected animals and are not thermally treated. Bacteria of the genus *Brucella* spp. represent a biological hazard and with great importance for One health. **Methodology:** 18 samples of raw milk and 18 samples of *coalho* cheese were sampled, observed by polymerase chain reaction (PCR) with a generic primer for *Brucella* spp, forward 5'- TCAGGCGCTTATAACCGAAG-3' e reverse 5'- ATCTGCGCATAGGTCTGCTT-3'. **Results:** DNA from bacteria of the genus *Brucella* spp. was not found in these 18 samples for raw milk and 18 samples of *coalho* cheese. **Discussion:** The non-detection of DNA in the samples surveyed is attributed to suggestive factors, such as: most of the animals have already been tested for brucellosis (Rose Bengal screening test) with non-reactive results; and, also, due to the fact that the state of Rio Grande do Norte (RN) registers very low anti-brucella immunization ($\leq 5\%$) until 2018, generation in which the current lactating cows are found. **Conclusions:** The negative result of the tests does not reflect the real epidemiological situation of bovine brucellosis in Rio Grande do Norte; however, it assures the quality of the milk and *coalho* cheeses tested, which can be considered safe in relation to the researched bacteria.

Keywords: *coalho* cheese; raw milk; *Brucella* spp; safe food; One health.

1. INTRODUCTION

Dairy farming has been increasing rapidly in developing countries and making significant contributions to health, nutrition, the environment and economic livelihoods.

However, animal products, mainly milk and its derivatives, may be an important route of transmission of zoonotic agents to humans (GRACE; WU; HAVELAAR, 2020).

Artisanal *coalho* cheese is a raw dairy product that is consumed on a large scale in the Brazilian Northeast region (MEDEIROS et al., 2020). Artisanal cheeses, made from raw milk, are considered traditional products in Brazil and other cultures around the world, being reputed as a strategy of social and economic reproduction under the responsibility of family farmers. These types of cheese are produced by the addition of rennet to milk and can be of animal, vegetable or microbial origin; and most of these artisanal delicacies do not undergo heat treatment and / or maturation and represent a potential source in the transmission of biological pathogens (MENEZES, 2011).

In this scenario, the artisanal production of cheeses does not always meet the good manufacturing practices established by the legislation in Brazil (BRASIL, 2019) and the requirements are not met specifically in relation to hygiene, which makes the consumption of these products a potential danger in the transmission of infectious agents (BRASIL, 2022a). With regard to the "artisanal making", necessary for the granting of the Art and Artisanal Cheese seals, the cheesemakers meet what is recommended in the legislation. These products have unique sensory properties, differentiated and inherent to the region, tradition or culture where they are produced and these seals add value to products of animal origin and allow free marketing in national territory, characterizing these products as unique and genuine (BRASIL, 2022b).

The most common form of transmission of brucellosis to humans is the ingestion of milk and its unprocessed derivatives, especially when it is obtained from infected animals. Bacteria of the genus *Brucella* spp. lodge in the mammary glands and supramammary lymph nodes of infected animals, and the milk of these animals is considered a source of pathogens (MOSLEMI et al., 2018).

The humans' infection by bacteria of the genus *Brucella* spp. through the consumption of dairy products represents a serious biological danger, with great importance for the unique health (BÉJAOUÏ; BEN ABDALLAH; MAAROUFI, 2022). The presence of these microorganisms in artisanal *coalho* cheeses is worrisome from a health point of view. Dairy intake is one of the main ways in which people can become infected with this microorganism (BEZERRA et al., 2019). In addition, the economic losses caused by bovine brucellosis are due to miscarriages, low reproductive rates, increased interval between calving, decreased meat and milk production, death of calves

and interruption of genetic lineages. Estimates show that the infection is responsible for the decrease of 20 to 25% of milk production, 10 to 15% of meat production, 15% of calf loss due to miscarriages, 30% increase in the rate of animal replacement and increase in the interval between deliveries from 11.5 to 20 months (MACEDO DE OLIVEIRA et al., 2013).

The production chain of milk and dairy products is an economic and social activity of high importance for the state of Rio Grande do Norte (RN), in Northeast Brazil. It generates occupation and income and produces daily food in the form of milk or dairy products. In relation to artisanal cheese makers, there are more than three hundred in operation, especially in the Seridó Territory where the existence of 314 units was notified (SEPLAN-RN, 2016a). Culturally, this geographical space is represented by the current Intermediate Geographic Region of Caicó, which produces 98.8 billion liters of milk/year, equivalent to 43.32% of RN's milk and it is one of the three intermediate regions of the Brazilian state of RN. It is composed of 24 municipalities, distributed in two immediate geographic regions: Caicó and Currais Novos (IBGE, 2017).

In order to strengthen this activity, it was signed between the Government of RN and the World Bank "The Sustainable RN Project" (SEPLAN-RN, 2016b) with investments of R\$ 23,000,000.00 (twenty-three million reais), which have been financing Sustainable Business Initiatives Projects for associative organizations of Family Agriculture production chain of Milk and its derivatives, with encouragement to primary production, processing and insertion of products in the market, as well as the adequacy of family agriculture agro-industries (cheesemakers) in the Seridó Territory. Specifically in this Territory, the objective is the agro-industries (cheese makers) structuring, owned by family farmers linked to a family farming cooperative, with a view to regularization with the competent bodies to obtain the sanitary inspection seal, which may be at the municipal, state or federal level.

The aim of this study was to institute the molecular surveillance procedure as a tool for the *Brucella* spp. detection in milk and artisanal cheeses produced in Rio Grande do Norte, Brazil.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 Study area and establishments selection

The study was carried out in artisanal cheese producing establishments, supported by the partnership between the State of RN and the World Bank through Sustainable Business Initiatives Projects for associative organizations of Family Agriculture production chain of Milk and its derivatives, with encouragement to primary production, processing and insertion of products in the market, as well as the adequacy of agro-industries (cheesemakers) of family agriculture in the Seridó Territory, financing subprojects in the Seridó Territory, where the Business Plan includes cooperatives and their cooperative members (cheesemakers), being allowed the maximum amount of R\$ 350,000.00 (three hundred and fifty thousand reais) per participant. These establishments differ from traditional cheese makers by having newly built buildings, or in the final phase of construction, with their facilities planned specifically for the production of cheeses, equipped with equipment made of stainless steel and with a well-defined production layout (Figure 1).

Figure 1 – Standardized architectural structure and stainless equipment of family agro industries, producers of artisanal *coalho* cheeses, in the state of Rio Grande do Norte, Brazil.

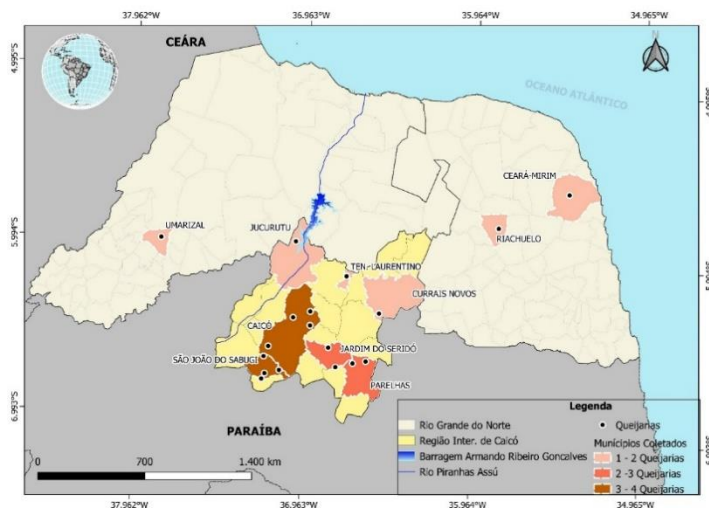


SOURCE: the author

The selection criterion used in this research was to include only those establishments that produced artisanal *coalho* cheese, made with raw milk, which resulted in the selection of 18 cheesemakers. Predominantly, the material of this study (83.3%)

was obtained in the intermediate region of Caicó; 11.1% in Natal region; and 5.6% in the intermediate Mossoró region (Figure 2).

Figure 2 – Agro family industries, producers of artisanal *coalho* cheeses, in the state of Rio Grande do Norte, Brazil.



SOURCE: the author

2.2 Samples Obtainment

The samples were obtained in February 2023, in the selected units. The sampling consisted of 3 well-defined steps: 1) raw milk collection, 30 ml; 2) samples of fresh cheese 30 grams, collected up to eight days after manufacture, both in Falcon 50 ml tubes previously identified and sterile; this material was kept under refrigeration in an isothermal box with subsequent freezing (-18°C) until the analyses were performed; and 3) finally, the application of a structured questionnaire to better understand the socioeconomic profile of those responsible for the producing establishments; also on herd management practices; and finally, about the production chain under study. The data obtained in this survey will help with the discussion of the research results.

The analyses were carried out at the Laboratory of Molecular Biology in the Federal University of Campina Grande (UFCG), Campus Patos.

2.3 Molecular Testing

The total DNA of the milk and cheese samples were extracted using the DNeasy blood and tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany), following the manufacturer's recommendations. Polymerase chain reaction (PCR) was performed with generic primers for *Brucella* spp, with the primers forward 5'- TCAGGCGCTTATAACCGAAG-3' and reverse 5'- ATCTGCGCATAGGTCTGCTT-3' following the protocol of Ratushma et al. (2006). Extracted DNA from the R19 vaccine was used as a positive control and ultrapure water as a negative control.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The molecular test did not detect the presence of bacterial DNA of the genus *Brucella* spp. in the 18 samples of raw milk and in the 18 samples of artisanal *coalho* cheese. A similar result in Brazil was found by Andretta (2019) who researched in 53 samples of artisanal Serro cheese, semi-hard and matured, from the southeast region. Differently Miyashiro (2007) found in 19.27% (37/192) DNA from field sample and vaccine DNA in informal cheese, such as minas frescal and minas curado in the southeast region. And de Silva (2016) identified in the Amazon region DNA from field sample and vaccine DNA in 21.21% (14/66), the research carried out on mozzarella cheeses, minas frescal cheese, minas cheese, provolone, *coalho*, butter, cabacinha and seasoned cheese of bovine and buffalo origin.

The result found in this study may be related to two main suggestive factors, which we will discuss below: 1) most of the material analyzed was obtained from serologically tested animals with non-reactive results; and 2) the history of low rates of antibrucella immunization of bovine females, strain B19, in the studied area.

The first item is related to the health of the herd, considering that more than half of the properties have already tested their animals for brucellosis, Rose Bengal Test, and classified as non-reactive. Through the application of a systematized questionnaire, information was obtained that half (09/18) of the interviewees had already tested one hundred percent of their herds; including, one of them having the condition of herd with free certification for diseases of the National Program for Control and Eradication of Brucellosis and Tuberculosis – PNCEBT. The other situations detected were 16.6% (03/18) with part of the herds with the tests already performed and 38.9% (07/18) with

animals without testing, yet. Some of these cheese makers, therefore, were in the licensing phase at the time of the research and working to implement the legal requirements.

Although it is a legal requirement, according to article 6 of Law 13,860 of 2019, Brazil (2019), the elaboration of artisanal cheeses from raw milk is restricted to cheese factories located in a rural establishment certified as free of tuberculosis and brucellosis, according to the rules of the National Program for the Control and Eradication of Brucellosis and Animal Tuberculosis (PNCEBT), or controlled for brucellosis and tuberculosis by a state animal health defense agency, within a period of up to 3 (three) years from the publication of this Law, without prejudice to other obligations provided for in specific legislation.

Certainly, another fact observed influenced the non-detection of vaccine bacterial DNA. It is related to the very low rate of immunization of bovine females with B19 vaccine in the researched territory. In a retrospective investigation in secondary data, analyzed to estimate the vaccination coverage rate of anti-brucella vaccination with the B19 strain and made available by the Institute of Defense and Sanitary Inspection of Rio Grande do Norte (IDIARN), the use of this immunobiological by cattle ranchers in the state was proven to be vile, despite being a compulsory procedure.

The present situation is worrying, since there has been a progressive increase in the immunization rate from 2.9% in 2015 to 5.9% in 2018, it reached 51.6% in 2019. However, probably due to the recent pandemic, there is a reduction in this rate of vaccination coverage, falling to 18.9% and 11.6% in the years 2020 and 2021, respectively. These data collected from the State Veterinary Service agency agree with what is published in the PNCEBT Situational Diagnosis, whose minimum acceptable rate should be 80% of vaccinated animals (BRASIL, 2020).

The vaccination of calves, with the B19 vaccine, generates advantageous economic results, as reported by Ferreira (2023) in the state of Rondônia, Northern Brazil, for every US\$ 1.00 invested in the control of the disease, generated a return of US\$ 1.7 for the socioeconomic sector, with the reduction of the prevalence of infected herds from 35.2% to 12.3% and of seropositive females from 6.22% to 1.9%. After a successful vaccination program of young females - in 2004 the vaccination coverage was 80% - and in the following years it continued above this value, reaching 88% in 2014.

A systematized epidemiological questionnaire was applied to know the socioeconomic profile and level of knowledge of the personnel responsible for the

elaboration of these artisanal cheeses. Regarding the level of education of the owners by the establishments, the profile is optimistic, since all of them attended at least elementary school. Most of them answered to have completed elementary school 83.3% (15/18 and three are attending higher education). There were no records of illiterates in the interviewed group. Certainly, this educational level makes it possible to have advances in the level of theoretical knowledge about the activity. According to the interviews, the fact that all of them had participated in training or qualification on safe cheese production and good manufacturing practices.

Evaluating the support in relation to technical assistance, directed to professionals and their productive activity, 100% (18/18) received training, and the Service 100% (18/18) of them receive technical assistance directed to their productive activity and the Brazilian Service of Support to Micro and Small Enterprises (Sebrae) is cited as the main promoter of this technical support. The provision of these services is also made available by public agencies and the private sector, or by more than one of them. In agreement with Simões (2021) we consider that it is extremely important to stimulate government programs to support family farmers to comply with ecological regulations, and it can be stated that the policy of technical assistance and rural extension is an instrument of income generation in Brazil.

According to the current regulations (BRASIL, 2022b), on the elaboration and marketing of food products of animal origin produced in an artisanal way, they must have technical qualification in good agricultural practices in the artisanal production and in the manufacture of artisanal products. The valorization of local, traditional and artisanal products involves a chain organized by different actors and their competences: producers, technicians, researchers, development and inspection institutions and consumers (SANTOS; CROSS; MENASCHE, 2012).

Regarding family income, it was observed to be varied. Most of them, 61.1% (11/18), reported having remuneration in the range of one to three minimum wages, in force during the interview period. Of these, two reported having an income below one minimum wage. The activity of producing cheese represented at least fifty percent of the income of the families (11/18), so that for two of them the activity accounted for 100% of the family's income. The artisanal production of cheeses is important in the rural environment of the Agreste and Sertão northeastern, by boosting the economy in small municipalities, constituting the main income or complementing the income of families,

contributes to the circulation of income in the municipality itself and slows down the rural exodus (MENEZES, 2011).

All the establishments included in this study were producers of Artisanal Curd Cheese; however, only three were unique to this product. It was found that most of them were producers of *coalho* and butter cheeses 66.6% (12/18). The *coalho* cheese is understood as an identity food, produced and consumed in the northeastern geographic space and crosses borders demanded by migrants who seek in the consumption of this product an approximation to their territory (MENEZES, 2011).

A worrying fact is the low added value to the cheese produced. The vast majority, 77.7% (14/18), declared to aggregate up to R\$ 30.00 (thirty reais) for each kilogram of the product. The minority 22.2% (04/18) manages to add a higher value, ranging from R\$ 30.00 (thirty reais) to R\$ 60.00 (sixty reais). This fact can be attributed to the presentation of the cheeses to the consumer, since most of these producers (14/18) produce and market in packages weighing 500 grams or more.

Information was obtained on the volume of serum obtained in these establishments that declared volume varied. The majority, 83.3% (15/18) declared to reach a volume of 2,500 to 15,000 liters/month. It has been found that this milk by-product is mostly intended for animal feed. The establishments 94.4% (17/18) reported destining it to food. It was also reported the use of whey for the preparation of ricotta cheese 16.6% (03/18). According to (PAULA et al., 2012), the use of this by-product can be better used, since the manufacturing technology used in the preparation of the milk drink is simple, low cost and does not require large investments to be implemented. Thus, the use of whey from the manufacture of *coalho* cheese for the preparation of milk drink, adds nutritional value and can generate revenues, and may be a viable alternative for the rational and sustainable ecological use of whey.

CONCLUSIONS

The molecular surveillance tool did not detect the presence of *Brucella* spp. in milk samples used for the manufacture of artisanal cheeses and made it possible to know the socioeconomic profile, the management practices of the animals involved and the technical knowledge of those responsible for the artisanal *coalho* cheese chain.

In addition, it confirmed the absence of systematic studies officially validated by the Official Veterinary Service that indicate the true prevalence of the disease in Rio

Grande do Norte and prove the very low vaccination coverage of females aged between 3 and 8 months.

The results showed the quality of *coalho* cheeses manufactured and marketed in the region studied and can be considered relatively safe.

It is expected that the results of this research can subsidize improvements in animal production practices, as well as in the elaboration of products and derivatives; In addition, to encourage the health defense and animal inspection bodies to execute their prerogatives in relation to what is laid down in the current legislation.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the producers of Artisanal Curd Cheese who participated in this research for collaborating with the donation of the researched material and for their consent to answer the epidemiological questionnaire.

BIBLIOGRAPHY

ANDRETTA, M. et al. Microbial safety status of Serro artisanal cheese produced in Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 12, p. 10790–10798, Dec. 2019.

BÉJAOU, A.; BEN ABDALLAH, I.; MAAROUFI, A. Brucella spp. Contamination in Artisanal Unpasteurized Dairy Products: An Emerging Foodborne Threat in Tunisia. **Foods**, v. 11, n. 15, 2022.

BEZERRA, S. S. et al. Detection of brucella spp. In artisan cheese commercialized in parnaíba, piauí state, Brazil. **Medicina Veterinaria (Brazil)**, v. 13, n. 1, p. 33–37, 2019.

BRASIL. **Lei Nº 13.860, de 18 de julho de 2019. Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências.** www.agricultura.gov.br. 2019.

BRASIL. **Diagnóstico Situacional do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT.** 1ª Edição ed. Brasília-DF: Biblioteca Nacional de Agricultura - BINAGRI, 2020.

BRASIL. **Portaria Nº 531, de 16 de dezembro de 2022. Estabelece requisitos para concessão dos selos ARTE e Queijo Artesanal pelos órgãos de agricultura e pecuária.** www.agricultura.gov.br. Brasília-DF, Brazil, 2022a.

BRASIL. Decreto Nº 11.099, de 21 de junho de 2022. **Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal.** **Diário Oficial da União.** Brazil, 2022b.

FERREIRA, B. F. S. et al. Economic analysis of bovine brucellosis control in the Rondônia state, Brazil. **Tropical animal health and production**, v. 55, n. 3, p. 225, 25 may 2023.

GRACE, D.; WU, F.; HAVELAAR, A. H. MILK Symposium review: Foodborne diseases from milk and milk products in developing countries—Review of causes and health and economic implications. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 11, p. 9715–9729, 2020.

IBGE. **Censo Agropecuário 2017, Resultados definitivos**. Available in: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/pecuaria.html?localidade=0&tema=75657>. Accessed in: 12 Mar. 2023.

MACEDO DE OLIVEIRA, R. et al. **Seroepidemiologia da leptospirose e brucelose bovina em propriedades rurais de agricultura familiar do agreste paraibano, Nordeste do Brasil Seroepidemiology of bovine leptospirosis and brucellosis in family farm rural properties in the State of Paraíba, Arq. Inst. Biol.** [s.l.: s.n.].

MEDEIROS, G. B. et al. Detection of mycobacteria in coalho cheese sold in Northeastern Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 1, p. 439–446, 2020.

MENEZES, S. DE S. M. Queijo de Coalho: tradição cultural e estratégia de reprodução social na Região Nordeste. **Revista de Geografia - UFPE**, v. 28, n. 1, p. 40–56, 2011.

MIYASHIRO, S. et al. Detection of *Brucella abortus* DNA in illegal cheese from São Paulo and Minas Gerais and differentiation of B19 vaccinal strain by means of the polymerase chain reaction (PCR). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 17–22, Mar. 2007.

MOSLEMI, E. et al. Detection of brucella spp. in dairy products by real-time PCR. **Archives of Clinical Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, p. 1–6, 2018.

PAULA, J. C. J. DE et al. Use of coalho cheese whey in the pasteurized dairy drink elaboration. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 387, p. 13–20, 2012.

SANTOS, J.; CRUZ, F. DA; MENASCHE, R. O mineiro, o queijo e os conflitos (nada poéticos) em torno dos alimentos tradicionais produzidos artesanalmente no Brasil. **Revista de economia Agrícola**, v. 59, n. 2, p. 7–19, 2012.

SEPLAN-RN. **Projeto RN Sustentável. Edital N° 005/2016 - Chamada Pública a Projetos de apoio a cadeia produtiva do leite e derivados da Agricultura Familiar no Rio Grande do Norte**. Brazil, 2016b.

SILVA, J. et al. *Brucella abortus* detected in cheese from the Amazon region: Differentiation of a vaccine strain (B19) from the field strain in the states of Pará, Amapá and Rondônia, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 8, p. 705–710z, 2016.

SIMÕES, M. DA R. S. A IMPORTÂNCIA DA ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL A PRODUTORES DE BASE FAMILIAR. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 2, p. 1058–1076, 29 Apr. 2021.

Research in Veterinary Science

Contaminação humana por exposição acidental à vacina anti-Brucella - cepas S19 e RB51: Uma Revisão Sistemática de literatura.

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	RVSC-D-23-01054
Article Type:	Review Article
Keywords:	Brucelose; vacinas S19 e RB51; exposição acidental, One Health
Corresponding Author:	Giovanni Brito Medeiros, Doutor Universidade Federal de Campina Grande Patos, PB BRAZIL
First Author:	Giovanni Brito Medeiros, Doutor
Order of Authors:	Giovanni Brito Medeiros, Doutor Pirajá Saraiva Bezerra Neto, Doutor Denize Monteiro Anjos, Doutora Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva, Doutora Flávio Ribeiro de Araújo, Doutor Sérgio Santos de Azevedo, Doutor Clecio Henrique Limeira, Doutor Clebert José Alves, Doutor
Abstract:	ABSTRATO Introdução: a brucelose é uma doença transmissível de grande importância: tanto pelos seus aspectos socioeconômicos como de saúde pública, pois afeta significativamente o comércio internacional de animais e seus produtos. Entre as medidas oficiais para o controle da doença está a vacinação compulsória de fêmeas bovinas através de bacterinas vivas atenuadas – cepas S19 e RB51. Objetivo: O objetivo do presente estudo foi realizar uma síntese qualitativa por meio de uma revisão sistemática da literatura sobre a ocorrência de contaminação de humanos pela vacina anti-Brucella - cepas S19 e RB51, por serem estes os imunógenos mais comuns e licenciados para aplicação em bovinos, na maioria dos países que adotam medidas de controle contra a brucelose bovina. Material e Métodos: OA metodologia Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-análise (PRISMA) foi utilizada para a pesquisa primária da literatura científica nestas cinco bases de dados eletrônicas: Pubmed, Science Direct, Scopus, Web of Science e Scielo. Resultados: os estudos publicados são raros; A maioria (06/10) dos textos selecionados é da modalidade “relato de caso”. Encontramos também um texto (01/10) abordando “relato de série de casos” e outros três artigos (03/10) do tipo estudo transversal. Discussão:A vacinação é uma das ferramentas mais importantes a serem utilizadas na fase de controle da brucelose bovina. Porém, sua utilização deve estar condicionada ao levantamento epidemiológico da doença no rebanho a ser imunizado, principalmente pela possibilidade de ocorrência de contaminação humana – direta ou indireta.
Suggested Reviewers:	Francisco Selmo Fernandes Alves Level A, EMBRAPA Sobral-CE selmo.alves@embrapa.br Level A Animal Health Researcher with several publications related to the topic infectious diseases ruminants Maria Aparecida Scatamburlo Moreira Federal University of Vicosa masm@ufv.br Setor de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública Rinaldo Aparecido Mota Federal Rural University of Pernambuco rinaldo.mota@hotmail.com

Human infection by accidental exposure to anti-Brucella vaccine - S19 and RB51 strains: A Systematic Literature Review

Giovanni Brito Medeiros, Pirajá Saraiva Bezerra Neto, Denize Monteiro dos Santos, Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva; Clécio Henrique Limeira, Flávio Ribeiro de Araújo, Sérgio Santos de Azevedo, Clebert José Alves

ABSTRACT

Introduction: brucellosis is a communicable disease of great importance: both for its socioeconomic and public health aspects, since it significantly affects the international trade of animals and their products. Among the official measures for the disease's control is the compulsory vaccination of bovine females through live attenuated bacterins – S19 and RB51 strains. **Objective:** The aim of the present study was to perform a qualitative synthesis through a systematic literature review on the occurrence of infection of humans by anti-Brucella vaccine - S19 and RB51 strains, as these are the most common and licensed immunogens for application in cattle in most countries that adopt control measures against bovine brucellosis. **Material and Methods:** The *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analysis (PRISMA)* methodology was used for the primary research of scientific literature in these five electronic databases: Pubmed, Science Direct, Scopus, Web of Science and Scielo. Then, it was complemented by a process of screening and selection of articles and, finally, data extraction and analysis. **Results:** published studies are rare; The majority (06/10) of the selected texts are of the "case report" modality. We also found a text (01/10) addressing "case series report" and three other articles (03/10) of the cross-sectional study type. These publications come from countries of 04 continents: America (Argentina, Brazil and the United States); Asia (Turkey) and Africa (Sudan). **Discussion:** Vaccination is one of the most important tools to be used in the control phase of bovine brucellosis. However, its use should be conditioned to the epidemiological survey of the disease in the herd to be immunized, mainly due to the possibility of the human infection occurrence - directly or indirectly - by the vaccine strains currently available.

KEYWORDS: Brucellosis; vaccines S19 and RB51; accidental exposure, *One Health*

1. INTRODUCTION

Brucellosis is a zoonotic disease caused by several bacteria of the genus *Brucella*, which is present in more than 170 countries and regions around the world (Hou, et al., 1). In addition, it is contagious and has a significant economic impact on livestock. The name of the generic term brucellosis is used for animal and human infections caused by several species of the genus *Brucella*, mainly *B. abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*. In cattle, this infection is predominantly caused by *B. abortus*, less often by *B. melitensis* and occasionally by *B. suis* (OIE, 2). In Brazil, bovine brucellosis caused by *B. abortus* is endemic because it is present in all federative units; however, *B. melitensis* is considered unusual in the country (De Alencar Mota et al., 3).

The disease has a great impact on public health, because it is a zoonosis of strong association with the occupational character, besides being a chronic debilitating infection and with high treatment costs (Pereira et al., 4). The incidence of human infection varies according to the degree of animal infection prevalence, socioeconomic level and eating habits (Mufinfa et al., 5). In humans, the most common causes of infection have been linked to the working conditions and exposure of livestock professionals and the consumption of infected products: meat, milk and derivatives (Osman et al, 6).

Despite being controlled in many developed countries, the disease remains endemic in many parts of the world, including Latin America, the Middle East, Spain, parts of Africa and West Asia (Memish et al., 7). The prevention of brucellosis in man depends, above all, on the control or eradication of the disease in animals (Lawinsky et al., 8). Vaccination is an effective measure to reduce the prevalence of brucellosis in animals and has contributed enormously to the success of many programs to control this disease (Dorneles et al., 8)

However, humans, especially those who work with animals (e.g., veterinarians, veterinary technicians, and farm employees) may be carelessly exposed to these vaccines through unintentional inoculation or other routes of exposure (Xie et al., 10). This implies that veterinarians and their assistants are among the occupational groups most susceptible to human brucellosis, since they need to deal directly with infected animals, aborted materials or calves, they are also exposed to infection by live attenuated vaccines – anti-*Brucella* (Osman et al., 6).

Currently, the vaccine strains of *B. abortus* - S19 and RB51 - are the immunobiological compounds with official recognition in Brazil and, the official

Program adopts different immunization strategies: vaccination is mandatory in young calves aged between 3 and 8 months - with the S19 strain; and the other females, including those that were not vaccinated at this age, using the RB51 vaccine. They are effective and fundamental products in the control of bovine brucellosis, but pathogenic to man (Pereira et al., 4).

In a perspective focused on *One Health*, we sought greater clarification of studies about the occurrence of accidental infection on people, by handling these vaccines, in order to enable greater control and adoption of biosafety measures by the organs of the official veterinary service and produce subsidies for future studies on the subject. Thus, the objective of the present study was to perform a qualitative synthesis through a systematic literature review on the occurrence of infection of humans by anti-Brucella vaccine - S19 and RB51 strains, as these are the most common and licensed immunogens for application in cattle in most countries that adopt control measures against bovine brucellosis.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Eligibility criteria and search strategies

In this stage, it was identified articles that met the established criteria, regardless of whether they were full texts or brief communications, as long as they addressed the accidental infection of humans by means of anti-Brucella vaccines - S19 and RB51 strains. During the planning and development of this research, the recommendations of the PRISMA methodology - Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analysis (Moher et al., 11) were observed.

The primary search of scientific literature was carried out in five electronic databases: Pubmed, Science Direct, Scopus, Web of Science and Scielo. The terms (Brucellosis OR Brucella abortus) AND (Occupational exposure OR Zoonosis) AND (S19 Vaccine OR RB51 Vaccine) were entered in the search fields of each database and all publications found were exported in file in the format "BibTex". There was no restriction on languages or year of publication, the surveys were conducted between May 25 and 27, 2022.

2.2. Screening process and selection of articles

The "BibTex" files were opened in a reference manager (Mendeley®) and the duplicate studies were deleted using a manager tool and during the screening step. The screening process of the studies was carried out by two researchers (GBM and CHL), independently, initially by evaluating the titles and abstracts of the publications, defining as inclusion criteria the following parameters: 1) human brucellosis; 2) accidental or occupational infection through anti-Brucella vaccines – S19 and/or RB51 strains. The disagreements between the two researchers regarding to the inclusion/exclusion were solved by consensus, and when doubts still remained, a third researcher was consulted (CJA).

The pre-selected titles and abstracts were analyzed and included if they were in accordance with the established criteria. Studies addressing accidental infection by anti-Brucella vaccines in humans, but containing other strains (*B. melitensis*, *B. suis*, for example). After being considered adequate, only the full articles and brief communications were fully evaluated by the researchers.

2.3. Data extraction and analysis

After the complete reading and confirmation of the studies eligibility, the most important information of each research was tabulated in an electronic spreadsheet for descriptive analysis of the results. The columns of the spreadsheet included references of the publications (author, year), country, vaccine strain, type of study, form of diagnosis, type of exposure, susceptible individuals, synthesis of the main symptoms and treatment performed.

3. RESULTS

The entire process of search and selection of studies is shown in the flowchart below (Fig. 1).

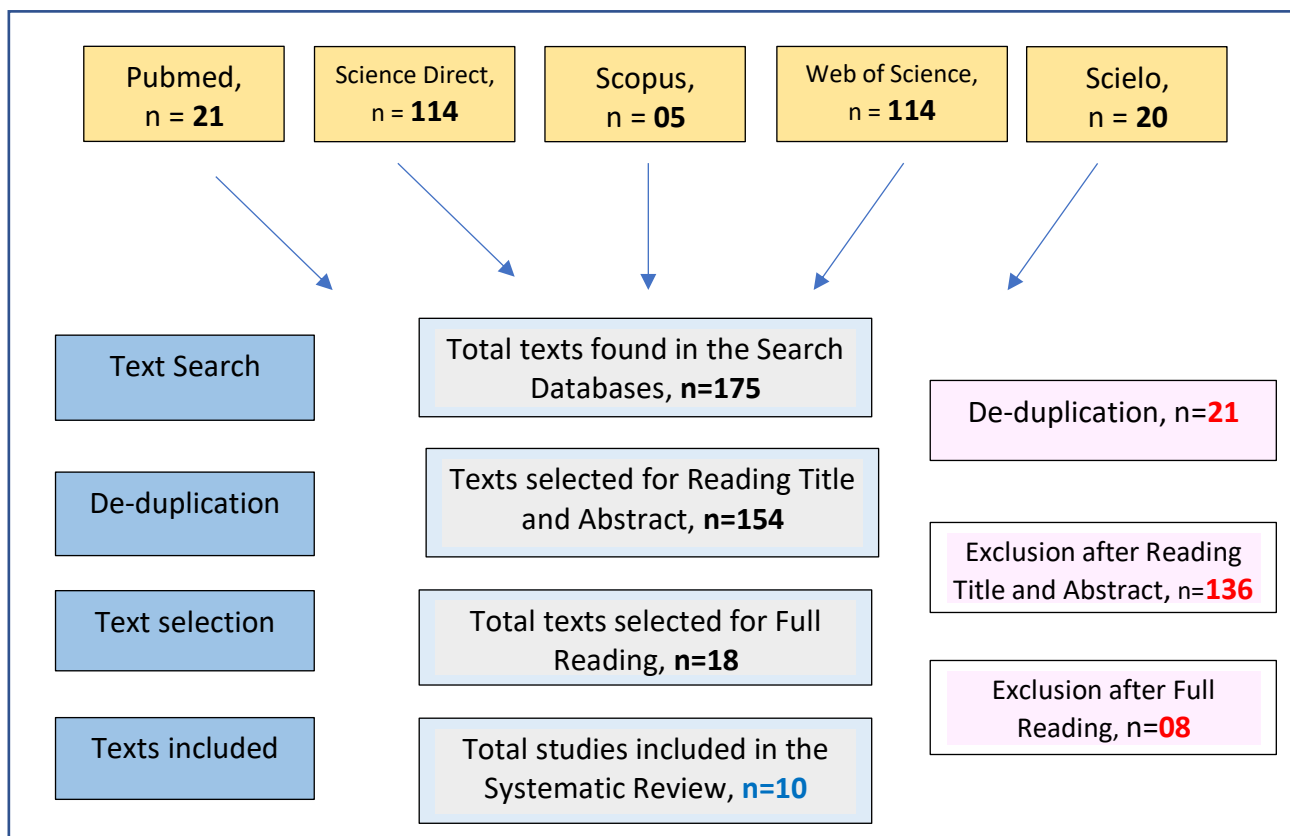


Figure 1 – Flowchart of search and selection of studies on human infection by accidental exposure to anti-Brucella vaccines, S19 and RB 51 strains.

Published studies are rare, so ten texts were selected. The majority (06/10) of the selected texts are of the "case report" modality. In addition to this type of study with a single individual, we also found a text (01/10) addressing "case series report" and three other articles (03/10) with cross-sectional studies. These publications come from countries of 04 continents: America (Argentina, Brazil and United States); Asia (Turkey) and Africa (Sudan), as shown in Table 01.

In chronological order, the text detected as the oldest was published by (Ashford, 12) in the United States of America, describing a series of cases about human infection by the handling of anti-Brucella vaccines. The strain studied was RB51, because it is the vaccine licensed by the U.S. government for immunization of cattle. In Argentina, (Wallach, 13) presented a cross-sectional study by infection based on the manifestation of symptoms, and subsequent testing, of workers who handled S19 vaccines in a production plant.

Then, texts published in Brazil (Hyeda; Sbardelloto, 14) and Turkey (15) as case reports. In Turkey, (Jutlu, 16) conducted a cross-sectional study involving veterinarians and technicians emphasizing occupational brucellosis. In the United States of America, one more case was reported by (Hatcher, 17) through the RB51 vaccine. Recently, in Brazil, (Moura, 18) described an accidental case, through needle prick, involving a veterinarian.

Two publications were classified as accidental, but not related to the handling of these vaccines: in Sudan and in the United States of America, respectively. In Africa, (Osman et al., 6) studied infections caused by classical brucellas in a group of 100 herdsmen of cows and goats and managed to isolate the S19 vaccine strain from 01 individual; however, they were unable to conclude which route of infection was involved in the case studied. In America, (Cossaboom, 19) published a very rare human case of brucellosis associated with the consumption of raw bovine milk (unpasteurized) in Paradise, Texas. This diagnosis was confirmed by the Center for Disease Control and Prevention (CDC) as being caused by the *Brucella abortus* vaccine, RB51 strain

.Table 01 - Main information from the studies included in the systematic review on the occurrence of human's infection by anti-Brucella vaccine - S19 and RB51 strains.

Author, Year; Country, Vaccine Strain	Study type/Diagnosis	Type of exposure	Susceptible individual	Symptomatology	Treatment
Ashford <i>et al</i> , 2004 USA RB51	Case series (n=26) Passive surveillance based on clinical symptomatology, for 24 months, categorizing into: LOCAL SYSTEMIC	Needle prick (21), spray on the conjunctiva (04) and wound contamination (01).	Veterinarians (n=21), veterinary students (n=02), veterinary technicians (n=02) and farm employees (n=01)	LOCAL: erythema > 10 days; and persistent redness > 8 days; SYSTEMIC: myalgia, fever, arthralgia, headaches, fatigue, sweating, chills, diarrhea or vomiting	Doxycycline PURE (17) – 200mg/21 days and/or association with Amoxicillin (01) Gentamicin (01) Ciprofloxacin (01) Tetracycline (04) Rifampicin * (01) None – (01)
Hyeda <i>et al</i> , 2011 Brazil S19	Case report Clinical/epidemiological	Needle prick	Veterinarian	Asymptomatic	PEP! : Doxycycline + Rifampicin
Karakas <i>et al</i> , 2012 Turkey S19	Case report Clinical/epidemiological	Needle prick	Veterinarian	Local pain under pressure, fever (38.3°C), sweating, testicular pain.	Doxycycline 200mg + Rifampicin 600mg (six weeks)
Osman <i>et al</i> , 2015 Sudan S19	Case report Culture: + Serology (after 21 days) RBT: + SAT: + 1:160 IgM+ and IgG+	THERE IS NO INFORMATION on how the transmission occurred	Herdsmen	Asymptomatic, investigative study with 100 herdsman of ruminant animals	It is not reported in the study

Cossaboom <i>et al</i> , 2017 USA RB51	Case report <u>HUMAN</u> Symptomatology, Confirmation: Culture and PCR	Raw milk consumption obtained from a vaccinated animal	Human used to consuming raw milk	Manifestation of fever and nonspecific signs (myalgia, arthralgia and night sweats) associated with the consumption of RAW MILK	It is not reported in the study
Hatcher <i>et al</i> , 2017 USA RB51	Case report Clinical/epidemiological	Needle prick	Veterinarian	Cough, malaise, myalgia, fever, arthralgia, pneumonia.	Hospital: Ceftriaxone + Azithromycin (IV), Doxycycline (oral). Post-hospital treatment: Doxycycline +TMP/SMX (60 days)
Moura <i>et al</i> , 2021 Brazil S19	Case report Blood culture (positive after 30 days); serology (reactive RB, after 21 days).	Needle prick	Veterinarian	Asymptomatic (IT IS NOT MENTIONED – the accident occurred 12 hours before seeking medical service)	PEP: Doxycycline + Rifampicin (06 weeks). Note: after 10 days Rifampicin was withdrawn due to the occurrence of side effects (Gastrointestinal)
Wallach <i>et al</i> , 2008 Argentina S19	Cross-sectional study (n=30) SYMPTOMS: Fever, asthenia, arthralgia, headache and myalgia PREVALENCE Blood culture: 30% (9/30); Serology* - 70% (21/30). *POSITIVE \geq 02 tests: RBT; SAT; 2ME; FC	REPORTED ROUTES OF EXPOSURES Percutaneous: n=06 Inhalation: n=03 Conjunctiva: n=01 Association: n=01 SEROLOGY (30) RBT: +24 SAT (\geq 100): +16 2ME: +19 FC: +22	Employees of a S19 Vaccine production plant	Fever, asthenia, headache, myalgia, arthralgia	Only 58.33% (11/21) received treatment: Doxycycline + Gentamicin (n=7); Doxycycline + Rifampicin (n=3) and Amoxicillin (n=1)

<p>Kutlu <i>et al</i>, 2014 Turkey S19</p>	<p>Cross-sectional study (n=712) +OB¹: n=84 +ADV²: n=118 +BOV³: n=33 Definition of CASE+: Symptomatology: +; Culture: + B. spp; Serology: + SAT > 1:160 or with ↑ 4X (10 – 14 days)</p>	<p>Needle lesions (n=90), conjunctival/splash (n=29), Skin lesions (n=3).</p>	<p>It is not grouped by profession, but BY VETERINARY STAFF (doctors and technicians)</p>	<p>It is not reported in the study</p>	<p>Doxycycline, or Doxycycline + Rifampicin</p>
<p>Pereira <i>et al</i>, 2021 Brazil S19 (n=104), RB51 (n=2) e S19+RB51 (n=2)</p>	<p>Cross-sectional study (n=329) Prevalence: 32.83% (108/329). Indirect ELISA (iELISA), PCR, RBT, Culture</p>	<p>FORMS OF INFECTION⁴: Needle prick (n=60), contact with intact skin (n=49), conjunctiva/splash (n=33), oronasal mucosa (n=10), skin lesions (n=07).</p>	<p>Veterinarians</p>	<p>Myalgia, Arthralgia, Asthenia, Chills, Sweating, fever, headache, weight loss, diarrhea</p>	<p>Cleaning and antiseptics at the site of inoculation. Some of them did not seek medical help and/or they self-medicated. Therapeutic measures: Doxycycline, amoxicillin, rifampicin + tetracycline, sulfonamide.</p>

¹ OB – Occupational Brucellosis

² ADV – suffered an accident during vaccination

³ BOV – Occupational Brucellosis by Vaccination

⁴ More than one **form of infection** per respondent is allowed.

4. DISCUSSION

In this systematic review about humans accidentally contaminated with anti-Brucella vaccines based on S19 and RB51 strains, it is evident that the theme has not motivated researchers to investigate more on the subject, ratified by the very low number of articles found in the research databases consulted on this topic. A perspective to be considered may be related to the level of severity of adverse effects (AEs) due to these products being reputed as mild or moderate in humans and there are, up to now, no reports of fatality or permanent damage associated with these vaccines (Xie et al., 10).

Reactions to accidental infection by anti-Brucella vaccines described in the studies include systemic symptoms, mainly joint pain, fever, muscle aches, asthenia (fatigue), chills, sweating, and headache, and also local reactions (erythema, stiffness, and pain at the inoculation site). Other less common symptoms observed were testicular pain, cough, pneumonia, diarrhea, and weight loss (Table 1). Regarding to symptomatology, the literature characterizes human brucellosis as a diversified clinical disease; Among the symptoms observed are continuous fever, asthenia, fatigue, headache, profuse sweating, weight loss and others. However, due to the nonspecificity of the symptoms, laboratory diagnosis is necessary to confirm the disease (Soares, 20).

In addition, according to the results shown in table 1, the professional categories most susceptible to accidents with anti-Brucella vaccines observed in the reports and case series were veterinarians, veterinary technicians and students of the veterinary course, as well as farm employees, such as herdsman and animal keepers.

In Brazil, for example, the official brucellosis control program was implemented in 2001 and adopts vaccination as a strategy to control animal brucellosis. In accordance with the most recent Situational Diagnosis of this Program (Brasil, 21) throughout the country, vaccination involves the participation of a total of 47,444 professionals; being 22,923 veterinarians of the private initiative who work in the vaccination against brucellosis, and 24,521 auxiliary vaccinators who perform their activities under the supervision of a registered veterinarian (MVC).

According to a survey conducted in Minas Gerais-Brazil, almost a third of the professionals interviewed had already been accidentally exposed to the S19 and RB51 vaccines. Extrapolating the data published in this research to the entire national territory, a frightening number is inferred: approximately 16,000 professionals may be infected by these bacteria, according to results published by (Pereira et al., 4). From the perspective

of *One Health*, the need for prolonged use of antibiotics and/or their combinations for extended periods and the impact on the number of disability-adjusted life years (DALY) are the main reasons that justify the importance of these types of incidents. The scenario is worrisome and deserves scientific and more rigorous study of this situation. In the cross-sectional studies, in addition to veterinarians and technicians, contamination was also observed in employees of a S19 vaccine production plant.

In the general context, the main routes of exposure observed were needle, conjunctival infection (splash) and oronasal mucosa and contact with the skin (injured or intact). Furthermore, it has also been observed that raw milk is a route of elimination of live brucellas of vaccine origin, which endangers consumers and herdsmen. According to (Dadar et al., 22), a strategy based on *One Health*, including the development of veterinary capacities and services, as well as the expansion of educational programs aimed at at-risk populations (veterinarians, technicians and farm employees) and the adoption of hygiene measures, have proven to be effective in controlling brucellosis and can be an efficient approach to accident prevention with anti-Brucella vaccines.

The occurrence of occupational infection in veterinary assistants, registered under the responsibility of accredited veterinarians, is a topic that needs further investigation through investigative epidemiological studies. According to (Pereira et al., 4), most veterinarians in Minas Gerais reported that their assistants did not wear personal protective equipment (PPE), such as masks, lab coats or glasses during occupational activities, although they also claimed that these assistants have been trained to deal with anti-Brucella vaccines. However, the record of S19 vaccine accidents among these ancillary workers was approximately three times lower than what was reported to occur with veterinarians.

Therefore, the possibility of human infection by accidents with anti-Brucella vaccines is real and the data found point to a worrying situation that should require more attention from public health systems, as well as from the managers of official programs that are responsible for disease control strategies in animals.

From the economic and epidemiological point of view, the vaccination of bovine females has been presented as an efficient and economically viable control tool. Recently, (Ferreira et al., 23) published studies referring to the state of Rondônia - Brazil, evidencing highly advantageous pecuniary results associated with the reduction of the prevalence of herds and reactive animals. In a first epidemiological study, in 2004, the prevalence of infected herds was 35.2%, and 6.22% for seropositive females. Ten years

later, in 2014, after a successful vaccination program of young females with strain 19 (S19), a second epidemiological survey detected a significant reduction in the prevalence rates of infected herds and females - 12.3% and 1.9%, respectively. Certainly, these results should stimulate the continuation of the immunization program of bovine females in that state, including the use of the RB51 to S19 vaccine strain, aiming at reducing the prevalence at low cost. However, there are no records on the occurrence of accidental infection of personnel involved in the process of immunization of herds.

There are efforts to develop better and safer vaccines that result in the elimination or reduction of the side effects demonstrated in animals and humans by these live bacteria. Promising results have been observed in mouse models, mainly with vaccines developed by subunits, resulting from technological advances in the application of recombinant DNA and bioinformatics. The production of new vaccines, from smooth and rough strains, has the potential to be the future of brucellosis control, but further studies are needed in terms of safety, efficacy and other desirable characteristics. However, they have presented obvious disadvantages: the need for multiple boosters, optimal combination of antigens with adjuvants, and low induction of cellular immune response, and the development of better vaccines has a long way to go (Hou et al., 1).

Moreover, there is a study published in Brazil on the intermittent excretion of the S19 vaccine strain in the milk and urine of cows throughout the reproductive cycle (Pacheco et al., 24). In Texas, a case of human brucellosis was confirmed through the consumption of unpasteurized raw milk (Cossaboom, 19). Intrinsically, these are very relevant findings in relation to public health and become a worrying factor, because there is a possibility that people are being indirectly contaminated by vaccine strains whose elimination occurs by vaccinated animals. And this should be better investigated, because it suggests the possibility of infection also of carnivorous, domestic and wild animals, when they maintain contact with materials from vaccinated animals, especially those related to fetal tissues and fluids.

Finally, we consider essential that all areas of the disease occurrence evolve to the eradication phase, where it is not necessary to use vaccination of bovine females. In Brazil, there is an example of success in the state of Santa Catarina, whose prevalence of outbreaks and quality of the actions' execution allowed the veterinary services to attest to the condition of negligible risk for bovine brucellosis and, therefore, as an area free of vaccination. However, besides a trained and efficient veterinary service in the execution and supervision of actions, the dissemination of educational information on the

prevention of accidents with live attenuated S19 and RB1 vaccine strains is an essential measure to ratify the importance of these immunogens in the control programs of endemic regions (Franc et al., 25), but without endangering the physical integrity of the people involved in daily activities with the animals.

5. CONCLUSIONS

Vaccination is one of the most important tools to be used in the control phase of bovine brucellosis. However, its use should be conditioned to the epidemiological survey of the disease in the herd to be immunized, mainly due to the possibility of the human infection occurrence - directly or indirectly - by the vaccine strains currently available.

References

1. Hou H, Liu X, Peng Q. The advances in brucellosis vaccines. *Vaccine*. 2019;37(30):3981–8.
2. OIE. Brucellosis (Infeccion with *B. abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*). In: OIE Terrestrial Manual, Chapter 314 [Internet]. Geneva, Switzerland.: OIE; 2018. p. 355–98.
3. de Alencar Mota ALA, Ferreira F, Ferreira Neto JS, Dias RA, Amaku M, Hildebrand Grisi-Filho JH, et al. Large-scale study of herd-level risk factors for bovine brucellosis in Brazil. *Acta Trop* [Internet]. 2016 Dec;164:226–32.
4. Pereira CR, Cotrim de Almeida JVF, Cardoso de Oliveira IR, Faria de Oliveira L, Pereira LJ, Zangerônimo MG, et al. Occupational exposure to *Brucella* spp.: A systematic review and meta-analysis. Lin T, editor. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2020 May 11;14(5):e0008164.
5. Mufinda FC, Boinas F, Nunes C. Prevalence and factors associated with human brucellosis in livestock professionals. *Rev Saude Publica* [Internet]. 2017 Jun 22;51(0):57.
6. Osman AEF, Hassan AN, Ali AE, Abdoel TH, Smits HL. *Brucella melitensis* biovar 1 and *Brucella abortus* S19 vaccine strain infections in milkers working at cattle farms in the Khartoum Area, Sudan. *PLoS One*. 2015;10(5).
7. Memish ZA, Balkhy HH. Brucellosis and international travel. *J Travel Med* [Internet]. 2004 Jan [cited 2021 Aug 23];11(1):49–55.

8. Lawinsky ML de J, Ohara PM, Elkhoury M da R, Faria N do C, Cavalcante KRLJ. Estado da arte da brucelose em humanos. *Rev Panamazonica Saude* [Internet]. 2010 Dec;1(4):75–84.
9. Dorneles EMS, Lima GK, Teixeira-Carvalho A, Araújo MSS, Martins-Filho OA, Sriranganathan N, et al. Immune Response of Calves Vaccinated with *Brucella abortus* S19 or RB51 and Revaccinated with RB51. *Hozbor DF, editor. PLoS One* [Internet]. 2015 Sep 9;10(9):e0136696.
10. Xie J, Wang J, Li Z, Wang W, Pang Y, He Y. Ontology-based meta-analysis of animal and human adverse events associated with licensed Brucellosis vaccines. *Front Pharmacol*. 2018 May 15;9(MAY).
11. MOHER D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med* [Internet]. 2009 Jul 21;6(7):e1000097.
12. Ashford DA, Di Pietra J, Lingappa J, Woods C, Noll H, Neville B, et al. Adverse events in humans associated with accidental exposure to the livestock brucellosis vaccine RB51. *Vaccine* [Internet]. 2004;22(25–26):3435–9.
13. Wallach JC, Ferrero MC, Victoria Delpino M, Fossati CA, Baldi PC. Occupational infection due to *Brucella abortus* S19 among workers involved in vaccine production in Argentina. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2008 Aug;14(8):805–7.
14. Hyeda A, Sbardellotto Fides. Exposição acidental à vacina da brucelose. *Revista Brasileira de Medicina do Trabalho*. 2011;9(2):63–8.
15. Karakaş A, Mert G, Coşkun O, Alga OH, Beşirbellioğlu BA, Eyigün CP. A case of human brucellosis associated with unintentional inoculation of the animal vaccine S19 | S19 hayvan aşısının kazayla inokülasyonu sonucu gelişmiş bir bruselloz olgusu. *Turk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 2012;69(1):37–40.
16. Kutlu M, Ergonul O, Sayin-Kutlu S, Guven T, Ustun C, Alp-Cavus S, et al. Risk factors for occupational brucellosis among veterinary personnel in Turkey. *Prev Vet Med*. 2014;117(1):52–8.
17. Hatcher SM, Shih D, Holderman J, Cossaboom C, Leman R, DeBess E. Field Adverse Event Associated with Unintentional Exposure to the *Brucella abortus* RB51 Vaccine - Oregon, December 2017. *Morbidity and Mortality Weekly Report* [Internet]. 2018;67(26):747.
18. Moura AS, Menezes LM, Matos MA de;, Costa CM, Borges BARantes. Occupational infection to *Brucella abortus* B19 vaccine despite antimicrobial prophylaxis. *Medicina (Ribeirão Preto)*
19. Cossaboom CM, Kharod GA, Salzer JS, Tiller R V, Campbell P, Wu K, et al. *Brucella abortus* Vaccine Strain RB51 Infection and Exposures Associated with Raw Milk Consumption - Wise County, Texas - 2017. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 2018 Feb 26;67(9):286.

20. Soares C de POC, Teles JAA, dos Santos AF, Silva SOF, Cruz MVRA, da Silva-Júnior FF. Prevalence of *Brucella* spp in humans. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2015 Sep 1;23(5):919–26.
21. BRASIL. Diagnóstico Situacional do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT [Internet]. 1ª. Brasília-DF: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento; 2020. 108 p.
22. Dadar M, Tiwari R, Sharun K, Dhama K. Importance of brucellosis control programs of livestock on the improvement of one health. *Veterinary Quarterly*. 2021;41(1):137–51.
23. Ferreira BFS, Barros ML, Ferreira F, Rocha A, Dias RA, Filho JHHG, et al. Economic analysis of bovine brucellosis control in the Rondônia state, Brazil. *Trop Anim Health Prod* [Internet]. 2023 May 25;55(3):225.
24. Pacheco W de A. Excreção de *Brucella abortus*, estirpe B19 pelo leite e urina de fêmeas bovinas de diferentes faixas etárias vacinadas contra brucelose e sua relação com o ciclo reprodutivo [Internet]. [São Paulo]: Universidade de São Paulo; 2007 [cited 2018 Nov 2].
25. Franc KA, Krecek RC, Häsler BN, Arenas-Gamboa AM. Brucellosis remains a neglected disease in the developing world: A call for interdisciplinary action. *BMC Public Health*. 2018;18(1):1–9.



EVALUATION OF ANTI-BRUCELIC IMMUNIZATION OF CATTLE IN THE STATE OF RIO GRANDE DO NORTE-BRAZIL, FROM 2015 TO 2019, WITH THE VACCINE S191.

Journal:	<i>Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Keyword:	Brucellosis, S19 vaccine, anti-brucelli immunization

SCHOLARONE™
Manuscripts

AVALIAÇÃO DA IMUNIZAÇÃO ANTIBRUCÉLICA EM BOVINOS NO RIO GRANDE DO NORTE-BRASIL, DE 2015 A 2019, COM A VACINA B19¹.

EVALUATION OF ANTIBRUCCELLIC IMMUNIZATION OF BOVINE IN THE RIO GRANDE DO NORTE-BRAZIL, FROM 2015 TO 2019, BY THE S19 VACCINE.

Giovanni Brito Medeiros¹, Pirajá Saraiva Bezerra Neto¹, Renato Dias Maia¹, Severino Silvano dos Santos Higimo², Sérgio Santos de Azevedo², Clebert José Alves²

¹Discentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, PPGCSA/Campus Patos-UFCG

²Docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, PPGCSA/ Campus Patos-UFCG

RESUMO

Introdução: a brucelose é uma doença transmissível e de grande importância: tanto por seu aspecto socioeconômico quanto pelo da saúde pública, pois afeta significativamente o comércio internacional de animais e de seus produtos. No Brasil, desde 2001 foi implementado o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose animal – PNCEBT que recomenda, nas áreas em fase de controle, a vacinação compulsória de fêmeas bovinas através de bacterinas vivas atenuadas – cepas B19 e RB 51. **Objetivo:** o trabalho teve por objetivo conhecer como o Rio Grande do Norte-RN tem desenvolvido suas ações junto ao Programa, com ênfase para a imunização antibrucélica de seus bovinos. **Metodologia:** o estudo analisou e comparou dados secundários obtidos junto aos serviços públicos de vigilância veterinária: Instituto de Defesa e Inspeção Agropecuária do Rio Grande do Norte – IDIARN (em nível estadual) e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (em nível federal), referentes à imunização do rebanho bovino. **Resultados:** os índices vacinais alcançados no Rio Grande do Norte estão aquém da meta preconizada e alcançada em nível nacional (80%), variando de 2,94% em 2015 a 51,64% em 2019, e durante todo o período observado não se conseguiu atingir os valores predeterminados. **Discussão:** ao contrário de outras unidades federativas que têm fortalecido suas estruturas de defesa sanitária para atender principalmente às necessidades do mercado, o RN não é considerado um estado exportador de animais e produtos bovinos e esse fato sugere ter influenciado para que o Estado tenha feito muito pouco em relação à brucelose animal. O mais recente diagnóstico situacional sobre o Programa contém informações que o Estado ainda não

¹ O texto está formatado de acordo com as normas editoriais da ARQUIVO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA (ONLINE) – ISSN 1678-4162, QUALIS A2. Disponíveis em: <https://www.scielo.br/journal/abmvz/about/#instructions>

conseguiu realizar o estudo epidemiológico para conhecer o *status* da doença em seu rebanho, sendo classificado como área de risco desconhecido (risco E). **Conclusões:** do ponto de vista das políticas públicas que enfatizam os aspectos socioeconômico e de saúde, é imprescindível que o Estado realinhe seu compromisso como gestor e fortaleça seu serviço veterinário para melhor executar as ações do Programa; isso irá proporcionar o fortalecimento de sua atividade pecuária como um todo, além de ofertar alimentos seguros para a sociedade.

PALAVRAS-CHAVE: Brucelose; vacina B19; imunização antibrucélica.

ABSTRACT

Introduction: brucellosis is a contagious disease and of great importance: as for its socioeconomic aspect as for the health public because it negatively affects international trade of animals and their products. In Brazil, since 2001, the National Program for the Control and Eradication of Brucellosis and Animal Tuberculosis - PNCEBT has been implemented, which recommends, in the areas under control phase the compulsory vaccination of cattle through of the live bacterins - strains B19 and RB 51. **Objective:** the objective of this study was to understand how the state of Rio Grande do Norte, Brazil, has developed its actions in relation to the Program, emphasizing the vaccination of their cattle against brucellosis. **Results:** the vaccine rates achieved in Rio Grande do Norte are below the recommended goal and those reached at the national level (80%), ranging from 2.94% in 2015 to 51.64% in 2019, and during the period observed, it was not possible to reach the predetermined values. **Discussion:** in contrast to others federal units that have strengthened their health defense structures to attend mainly to market requirements, the RN is not considered an agro-export player of animals and bovine products and this fact suggests to have an influence so that the State has done very little in relation to animal brucellosis. The latest situational diagnosis on the PNCEBT contains information about the State not having given the necessary attention that the topic requires, given that it didn't even carry out the epidemiological study to know the status of the disease in its herd, being classified as a risk area unknown (risk E). **Conclusions:** from the point of view of the public policies that emphasize the socioeconomic and health aspects, it is imperative that the State realigns its commitment as a manager and strengthens its veterinary service to better execute the actions of the Program; this will provide the strengthening of its livestock activity as a whole, in addition to offering safe food to society.

KEY WORDS: Brucellosis; antibrucellic immunization; S19 vaccine

INTRODUÇÃO

A brucelose é uma doença zoonótica causada por bactérias do gênero *Brucella*, as quais são cocobacilos Gram negativos, e há registros de sua ocorrência em mais de 170 países de diferentes regiões ao redor do mundo; a brucelose bovina é causada pela *Brucella abortus* e é considerada como uma doença transmissível de grande importância tanto por seu aspecto socioeconômico quanto pelo da saúde pública e por afetar significativamente o comércio internacional de animais e de seus produtos. Os impactos negativos dessa doença na pecuária incluem a redução na produção de leite, redução da conversão alimentar do rebanho, abortos, infertilidade e mortalidade das fêmeas que abortam, mortalidade perinatal, aumento dos intervalos de partos e, ainda, maior necessidade de reposição dos animais (ALVES et al., 2015).

No Brasil, em 2001, foi instituído o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), com o objetivo de reduzir os impactos negativos da doença na saúde pública e promover uma maior competitividade da pecuária nacional (BRASIL, 2006). Essas normas oficiais foram recentemente atualizadas (BRASIL, 2017a). Conforme se intitula, esse Programa preconiza medidas de controle e erradicação das doenças brucelose e tuberculose. Devido à importância da brucelose para a saúde pública e aos danos que causa à pecuária, muitos esforços têm sido despendidos para controlar e erradicar a doença nos bovinos (DORNELES; SRIRANGANATHAN; LAGE, 2015). Dentre as medidas de controle da brucelose, o PNCEBT normatiza o uso de dois tipos de vacinas vivas atenuadas com os seus pré-requisitos de uso bem definidos; sendo uma indutora de anticorpos, cepa B19, e outra não indutora de anticorpos, cepa RB5 (BRASIL, 2017b).

Estabeleceu-se um prazo, expirado em dezembro de 2003, para que cada unidade federativa (UF) implantasse a obrigatoriedade de vacinação de bezerras com a vacina B19, porém nem todos conseguiram cumprir satisfatoriamente este prazo (BRASIL, 2020). O Rio Grande do Norte é um dos poucos Estados brasileiros que ainda não realizou estudos populacionais sobre a ocorrência da brucelose e tuberculose em sua população animal, sendo enquadrado pela recente normatização como área de risco desconhecido – risco E (BRASIL, 2017a). Nessa categoria de risco, preconiza-se o uso da vacinação de fêmeas. Apesar de serem vacinas conhecidas o seu uso somente é recomendado no estágio de controle da doença e

autorizado a médicos veterinários cadastrados no serviço oficial ou a auxiliares que atuem sob sua responsabilidade.

Em relação à taxa de imunização antibrucélica do rebanho bovino, em nível nacional, de modo geral o país tem atingido índices satisfatórios. Dados oficiais recentemente divulgados (BRASIL, 2020), informam que em 2018 o país imunizou 80,8% das fêmeas aptas à vacina B19. Observa-se que esta atividade está melhor consolidada nos territórios considerados agroexportadores de animais e seus produtos.

A pecuária leiteira no Estado do Rio Grande do Norte é uma atividade de grande importância econômica e social, haja vista que 79% dos estabelecimentos agropecuários se dedicam a esta atividade; do total de leite ordenhado no estado, 44% são produzidos pela agricultura familiar e os outros 56% por produtores de médio e grande porte. O RN é um estado que produz queijos artesanais, merecendo destaque a produção artesanal dos queijos de coalho e de manteiga, além da manteiga de garrafa. Sabe-se que, de modo geral, essa atividade leiteira praticada pela agricultura familiar se caracteriza pelo baixo nível tecnológico adotado – manejos sanitários, nutricional e reprodutivo – ao contrário de parte dos produtores não familiares, os quais já adotam práticas de produção que lhe proporcionam maior competitividade no mercado (LAC, 2016).

OBJETIVO

O presente estudo busca conhecer e analisar os esforços direcionados pelo Estado do Rio Grande do Norte para imunizar suas bezerras com idade de 3 a 8 meses; além disso, sugerir adequações ao serviço veterinário estadual – IDIARN, Instituto de Defesa e Inspeção Agropecuária do Rio Grande do Norte – para que sejam atingidos melhores resultados no controle da brucelose animal.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi elaborado como estudo ecológico, correlacionando-se o número de animais vacinados contra a brucelose – vacina B19 – no período de 2015 a 2019. Os dados

utilizados foram obtidos junto ao IDIARN, dados secundários. O Instituto é uma autarquia com personalidade jurídica de direito público, vinculado à Secretaria de Estado da Agricultura, da Pecuária e da Pesca do Rio Grande do Norte – SAPE – e sua missão é exercer a defesa e inspeção agropecuária, assegurando a oferta de produtos de qualidade, contribuindo para a preservação da saúde pública, do meio ambiente e o aumento da competitividade dos produtos do Rio Grande do Norte. No contexto do Sistema Unificado de Atenção à Saúde Animal e Vegetal – SUASA, é o órgão representativo local responsável pelo serviço de vigilância estadual – SVE (IDIARN, 2020).

Área de estudo

A área estudada foi o Rio Grande do Norte, o qual está inserido na Região Nordeste do Brasil e cuja unidade territorial é de 52.809,602 km². O SVE está presente em 12 Unidades Locais de Sanidade Animal e Vegetal – ULSAV, distribuídas pelo território potiguar.

População estudada

Neste artigo se utilizou dados secundários, os quais foram obtidos junto ao Sistema de Gestão Agropecuária – SIAPEC/IDIARN, versão 1. Selecionou-se exclusivamente a população bovina com idade apta à vacinação – fêmeas com até 12 meses. Além disso, utilizou-se os quantitativos de bezerras imunizadas com a vacina B19 na série histórica compreendida de 2015 a 2019 e o número de bezerras efetivamente vacinadas e cadastradas junto ao órgão e que possibilitou a elaboração da taxa de cobertura vacinal.

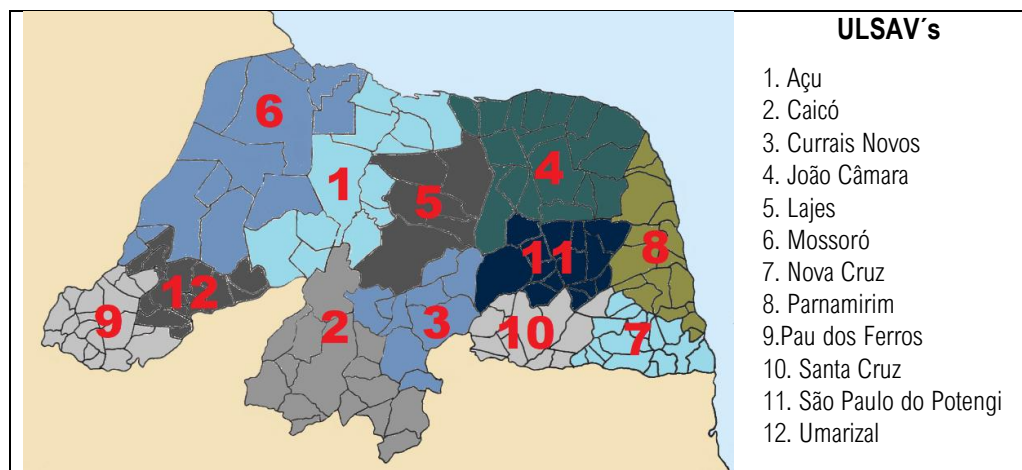
Análise estatística

Para cada ULSAV foi calculada a cobertura vacinal (expressa em porcentagem), de acordo com o ano, por meio da divisão do número de bezerras vacinadas sobre o total de bezerras aptas à vacinação. A cobertura vacinal foi comparada entre os anos, em cada ULSAV, pelo teste de qui-quadrado com 5% de significância, utilizando o ambiente R (R Core Team, 2019), ambiente RStudio.

RESULTADOS

Para melhor executar suas atividades o IDIARN fragmentou o território do Rio Grande do Norte em doze subunidades, denominadas Unidades Local de Atenção à Saúde Animal e Vegetal – ULSAV, estando os escritórios locais situados nas cidades polo de cada região, considerando suas características ambientais e vocações econômicas (Figura 01).

Figura 1 – Distribuição do Serviço Veterinário Estadual (SVE), segundo ULSAV, no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil.



FONTE: O autor

Em relação à distribuição espacial das fêmeas bovinas com idade vacinal a composição é variável entre as próprias ULSAVs, de maneira que as unidades que apresentaram os rebanhos mais expressivos foram: Caicó (18,2%), Açu e Parnamirim (9,4%), Currais Novos (9,0%); por outro lado, Umarizal e Santa Cruz com 4,2% e 5,0%, respectivamente as regionais com menor número de bezerras nessa faixa etária (Figura 02).

Figura 2 – População de bezerras com idade até 12 meses e sua proporção estimada segundo a ULSAV, de 2015 a 2019, aptas a serem vacinadas contra a vacina B19 no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil.

ULSAV	2015	2016	2017	2018	2019	%
AÇU	7.602	6.186	6.377	5.037	4.671	9,4
CAICÓ	12.351	10.483	11.930	11.899	11.117	18,2
CURRAIS NOVOS	6.522	4.889	5.544	5.572	5.974	9,0
JOÃO CÂMARA	4.697	3.512	3.800	4.370	4.417	6,6
LAJES	5.029	3.944	4.536	4.051	4.298	6,9
MOSSORÓ	6.253	4.645	4.860	5.467	5.473	8,4
NOVA CRUZ	5.374	3.976	4.372	4.894	3.778	7,1
PARNAMIRIM	6.381	6.002	5.921	6.157	5.451	9,4
PAU DOS FERROS	5.679	4.423	4.622	5.840	4.982	8,1
SANTA CRUZ	3.583	2.953	3.528	2.864	2.947	5,0

SÃO PAULO DO POTENGI	5.303	4.846	4.535	4.821	5.100	7,8
UMARIZAL	3.032	2.285	2.457	2.939	2.713	4,2
RIO GRANDE DO NORTE	71.806	58.144	62.482	63.911	60.921	100

FONTE: IDIARN

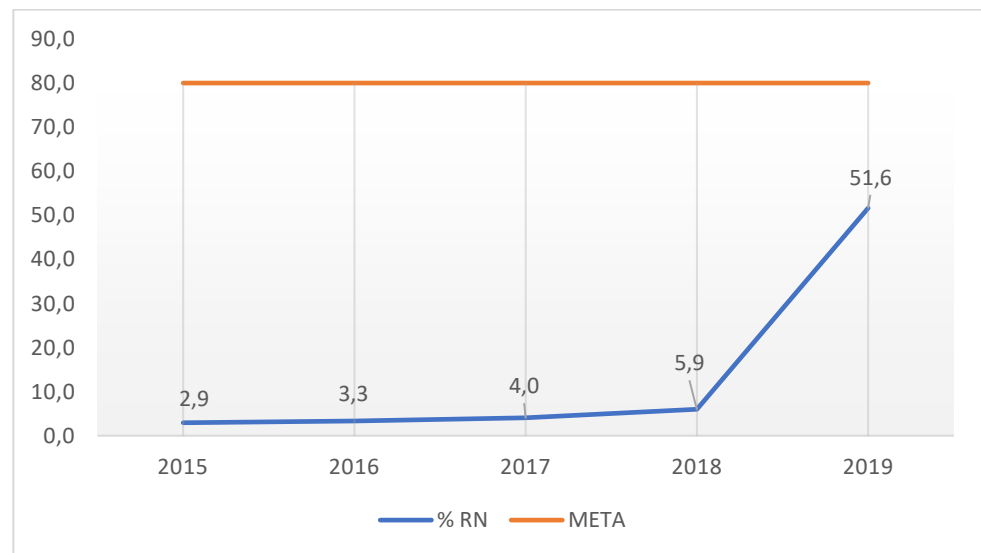
Acerca da taxa de cobertura vacinal com a vacina B19, no período de 2015 a 2019, de modo geral, os números revelam que o Rio Grande do Norte não conseguiu atingir a meta de imunização estabelecida pelo PNCEBT. Em 2019 foi verificado um expressivo aumento se comparado aos anos anteriores da série estudada, cuja variação oscilou de 2,94% em 2015 para 51,64% em 2019 (Figura 03). O incremento foi notório e chama a atenção ao se analisar os dados dispostos em gráfico (Gráfico 01). Foi verificada diferença estatística significativa ($P < 0,0001$) na cobertura vacinal entre os anos em cada ULSAV e no estado.

Figura 3 – Quantitativo de bezerras vacinadas e taxa de cobertura vacinal (cepa B19) segundo ULSAV, de 2015 a 2019, no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil.

ULSAV	2015		2016		2017		2018		2019	
	B19	%	B19	%	B19	%	B19	%	B19	%
AÇU	32	0,4	40	0,6	55	0,9	316	6,3	2.842	60,8
CAICÓ	355	2,9	422	4,0	545	4,6	1.015	8,5	7.133	64,2
CURRAIS NOVOS	210	3,2	290	5,9	327	5,9	495	8,9	3.133	52,4
JOÃO CÂMARA	89	1,9	183	5,2	280	7,4	369	8,4	1.963	44,4
LAJES	68	1,4	92	2,3	110	2,4	127	3,1	2.125	49,4
MOSSORÓ	105	1,7	123	2,6	151	3,1	185	3,4	2.580	47,1
NOVA CRUZ	12	0,2	16	0,4	21	0,5	32	0,7	1.888	50,0
PARNAMIRIM	1.094	17,1	533	8,9	615	10,4	512	8,3	2.860	52,5
PAU DOS FERROS	18	0,3	32	0,7	45	1,0	56	1,0	1.312	26,3
SANTA CRUZ	56	1,6	84	2,8	110	3,1	142	5,0	1.513	51,3
SÃO PAULO DO POTENGI	60	1,1	102	2,1	225	5,0	514	10,7	2.428	47,6
UMARIZAL	15	0,5	18	0,8	22	0,9	36	1,2	1.683	62,0
RIO GRANDE DO NORTE	2.114	2,9	1.935	3,3	2.506	4,0	3.799	5,9	31.460	51,6

FONTE: IDIARN

Gráfico 1 – Taxa de cobertura vacinal com a vacina B19, de 2015 a 2019, de fêmeas bovinas com idade até 12 meses no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil.



Fonte: IDIARN

DISCUSSÃO

Conforme explicitado em seu título, o PNCEBT contempla ações de “controle” e de “erradicação” da brucelose e da tuberculose animal no território brasileiro. Porém, para que suas atividades estejam devidamente ajustadas com as metas estabelecidas pelo serviço veterinário oficial (SVO), há a necessidade de se conhecer a prevalência dessas doenças em cada unidade federativa (BARDDAL et al., 2016). De acordo com Ferreira Neto (2018), a situação epidemiológica da doença no Brasil é bem descrita em 85% da população bovina e os programas de vacinação implementados pelos estados têm apresentado resultados animadores.

Entretanto é diversa a situação entre os Estados em relação ao Programa, pois vários estados já desenvolveram estudos epidemiológicos acerca da prevalência das doenças do PNCEBT, conforme (CLEMENTINO; AZEVEDO, 2016). Ferreira Neto (2018) enfatizou que essas investigações são realizadas por meio de estudos transversais baseados em parceria entre a Secretaria de Saúde Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, os serviços veterinários oficiais dos estados e o Centro Colaborador em Sanidade Animal da Faculdade de Veterinária Medicina e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Em relação à

brucelose bovina, ele destacou que 18 estados já foram investigados, equivalendo a 85% da população bovina do Brasil, indicando haver significativa heterogeneidade da doença tanto dentro dos estados (diferenças regionais) como entre os estados em si. Há Estados que já conduziram 3 estudos, outros com 2 e também há os que realizaram somente um inquérito. Porém, existe também o grupo cuja situação ainda é desconhecida, pois não realizou nenhum levantamento para conhecer o *status* sanitário do seu rebanho: os Estados: AP, AM, CE, PI, RN e RR – risco E (BRASIL, 2020). Segundo a normativa brasileira IN 10, de 2017, Artigo 85 (BRASIL, 2017), a vacinação de fêmeas bovina contra a brucelose é indicada nos territórios classificados como de risco: B, C, D e E (Anexo 01). O uso da vacinação deve ser obrigatório e é considerada uma estratégia imprescindível para o controle da enfermidade no país, recomendando-se uma taxa de cobertura vacinal mínima de 80% da população alvo. A erradicação da brucelose é um processo sistemático e complexo e não pode ser concluído em um curto período de tempo (ZHANG et al., 2018). Segundo BAUMGARTEM *et al.* (2016), exceção é Santa Catarina, considerado o único ente federativo livre de uso de vacinas contra brucelose, onde o uso da vacina B19 deve permanecer proibida pelo fato de o Estado continuar com baixíssima prevalência da doença.

Em relação a taxas de cobertura vacinal, em 2018 o país vacinou 80,2% de suas fêmeas com idade de 3 a 8 meses, cujos Estados: MS, MT, PA, RO, RS, RR e TO atingiram a meta de vacinação. Conforme Oliveira *et al.*, (2020), seus estudos concluíram que a vacinação tem se mostrado efetiva na diminuição dos casos de brucelose nos estados da região centro-oeste, porém ainda existem entraves para a erradicação completa da doença, que é o seu objetivo final. Um outro cenário constatado foi o dos estados: ES, MG, PE, PR, RJ e SP que em virtude da média quinquenal, de 2014 a 2018, alcançaram índices satisfatórios – superiores a 70% – apesar de notificarem suas taxas abaixo do desejável. Esses números demonstram que o programa de vacinação não se consolidou no RN, diferentemente do observado em nível nacional, sobretudo nas UF cuja produção pecuária é expressiva voltada para o mercado de exportação (BRASIL, 2020).

No entanto, avanços têm sido alcançados na imunização bovina, haja vista o incremento observado no período analisado. Em 2015 a taxa de imunização era 2,9% e, em apenas cinco anos, evoluiu para 51,6%. Esse expressivo crescimento é decorrente de algumas ações que o serviço veterinário estadual implementou recentemente, merecendo destaque:

a comprovação (atestado emitido por médico veterinário habilitado) e o registro compulsório das fêmeas vacinadas no banco de dados do IDIARN. Mesmo assim, os dados fornecidos expõem que há muito a ser feito para se atingir a meta de imunização; pois, as taxas vacinais: geral do Estado, bem como a da ULSAV com maior cobertura vacinal - ULSAV Caicó confirmarem essa hipótese, 51,6% e 64,2%, respectivamente.

O PNCEBT recomenda o uso de vacinas clássicas atenuadas – B19 e RB51 – como sendo os imunobiológicos padrão, cuja aplicação deve ser aplicada por médico veterinário habilitado (MVH) ou por auxiliares sob sua responsabilidade. Segundo CLEMENTINO; AZEVEDO (2016), desde o início de Programa, o Brasil utiliza a vacina B19 para a imunização de fêmeas bovinas jovens, com idade de 3 a 8 meses; e que, a partir de 2007, foi aprovada o uso de vacinas elaboradas com a cepa RB51 para imunização de fêmeas bovinas, inclusive para as com idade superior a 8 meses, havendo a necessidade de se identificar individualmente cada animal vacinado e cadastrá-los junto ao órgão competente todos os animais imunizados. Embora seja um imunogênico reconhecido oficialmente pelo Programa, não existem registros oficiais do uso da vacina RB51 no gado do RN. De maneira que todos os registros referentes a animais vacinados são considerados como tendo sido pela vacina B19.

Em publicação recente, GHEIBI *et al.* (2018) mencionaram que essas vacinas fornecem uma proteção desejável aos animais vacinados contra infecções causadas pela *B. abortus*, pois elas contêm todos os componentes imunogênicos de replicação e invasão celular e também pelo fato de induzirem ampla imunidade ao hospedeiro. Além disso, esses autores destacaram a eficácia delas na prevenção do aborto e na transmissão da brucelose; no entanto, eles ressaltam que as mesmas podem vir a causar aborto em fêmeas gestantes e advertem sobre a sua virulência para os humanos. Segundo observações de HOU; LIU; PENG (2019), a vacina RB51 quando comparada à cepa B19 pode ser considerada como mais estável e menos virulenta para humanos e que, atualmente, é usada como vacina de referência em muitos países. No entanto, fazem ponderações importantes em relação à saúde pública: o fato da cepa RB51 ser resistente à rifampicina, um dos antibióticos no tratamento da brucelose humana; e, também, consideram a impossibilidade de se detectar infecções através de testes sorológicos. Considerando-se ainda o atual cenário de globalização, uma outra importante abordagem sobre a utilização dessas vacinas vivas é o seu uso potencial pelo bioterrorismo,

surgindo daí a necessidade de serem desenvolvidas uma nova geração de vacinas contra a brucelose baseadas em DNA e outras tecnologias (GHEIBI et al., 2018).

Em relação à saúde única dois fatores merecem receber maior atenção e ser melhor estudado pelas autoridades sanitárias. O primeiro deles é o fato destas vacinas serem bacterinas vivas atenuadas e apresentarem potencial perigo para contaminar pessoas, outras espécies animais e o meio ambiente. Em dados publicados pelo MAPA, em 2018 o Rio Grande Norte possuía 114 médicos veterinários habilitados e mais 10 auxiliares que atuam sob a responsabilidade desses. Isso posto, seria sugestivo a realização de estudo epidemiológico para se conhecer o número real de pessoas envolvidas no processo e de se fazer o levantamento sobre a existência de pessoas contaminadas pela *Brucella* e através de análise molecular diferenciar se a infecção ocorreu por cepas de campo ou pela vacinal, se possível. O segundo seria em relação à contaminação ambiental por meio de sobras de vacina. Esse fato é interessante e merece ser melhor estudado. No Rio Grande do Norte a agricultura familiar possui cerca de cinquenta por cento do rebanho bovino, cuja maioria é constituída por pequenos grupos de animais (LAC, 2016) e a Indústria de Produtos para Saúde Animal, sem considerar esta realidade local, padronizou o envase e a comercialização de frascos contendo 15 doses da vacina, cuja tendência é a de se gerar excedentes de produto reconstituído na condição de lixo infectante; pois, o número de fêmeas de cada produtor com idade vacinal dificilmente atinge o número de doses de cada embalagem. Isso tem proporcionado discussão entre os veterinários envolvidos no processo em virtude de a destinação não estar bem elucidada.

CONCLUSÕES

Em virtude da situação observada, recomenda-se às autoridades competentes a urgente necessidade de se fortalecer o PNCEBT no Rio Grande do Norte, inicialmente através de levantamento epidemiológico para se conhecer o verdadeiro *status* sanitário de seu rebanho em relação à brucelose bovina, possibilitando ao serviço veterinário estadual implementar as ações necessárias ao controle da doença – enfatizando-se o uso de vacinas – permitindo evoluir para a fase posterior e mais avançada, a de erradicação da doença.

Do ponto de vista de políticas públicas, com enfoques socioeconômico e sanitário, há

a necessidade de o Estado realinhar seu compromisso público em relação ao Programa, o que consequentemente irá proporcionar o fortalecimento da atividade pecuária e a certificação da produção segura de alimentos para a sociedade.

AGRADECIMENTOS

Nossos sinceros agradecimentos ao IDIARN; especialmente a José Alcimario Lima Gameleira, médico veterinário e fiscal estadual de defesa agropecuária, por sua gentil colaboração no levantamento e organização dos dados utilizados neste estudo.

Referências

- ALVES, A. J. S. et al. Economic analysis of vaccination to control bovine brucellosis in the States of Sao Paulo and Mato Grosso, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 118, n. 4, p. 351–358, 2015.
- BARDDAL, J. E. I. et al. Effect of vaccination in lowering the prevalence of bovine brucellosis in the State of Mato Grosso, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 5Supl2, p. 3479, 9 nov. 2016.
- BAUMGARTEN, K. D. et al. Prevalence and risk factors for bovine brucellosis in the State of Santa Catarina, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 5Supl2, p. 3425, 9 nov. 2016.
- BRASIL. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) - MANUAL TÉCNICO**. Brasília-DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento., 2006.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA Nº 10, DE 3 DE MARÇO DE 2017**. Brasília-DF: [s.n.]. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/brucelose-e-tuberculose/1IN102017.pdf>>. Acesso em: 3 nov. 2018a.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 10, de 03 março de 2017. Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal. Diário Oficial [da] União, Brasília DF. 20 jun. 20.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>.
- BRASIL. **Diagnóstico Situacional do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT**. 1ª ed. Brasília-DF: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2020.
- CLEMENTINO, I. J.; AZEVEDO, S. S. DE. Bovine brucellosis: Epidemiological situation in Brazil and disease control initiatives. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 2021–2034, 30 ago. 2016.
- DORNELES, E. M. S.; SRIRANGANATHAN, N.; LAGE, A. P. Recent advances in *Brucella abortus* vaccines. **Veterinary Research**, v. 46, n. 1, p. 1–10, 2015.

FERREIRA NETO, J. S. Brucellosis and tuberculosis in cattle in South America. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci**, v. 55, n. e141139, p. 1–23, 2018.

GHEIBI, A. et al. Development of new generation of vaccines for *Brucella abortus*. **Heliyon**, v. 4, n. 12, 2018.

HOU, H.; LIU, X.; PENG, Q. The advances in brucellosis vaccines. **Vaccine**, v. 37, n. 30, p. 3981–3988, 2019.

IDIARN. **Instituto de Defesa e Inspeção Agropecuária do Rio Grande do Norte - IDIARN**. Disponível em: <<http://www.idiarn.rn.gov.br/Index.asp>>. Acesso em: 5 nov. 2020.

LAC, C. N. K. **Diagnóstico e planejamento estratégico para o desenvolvimento de atividades produtivas agrícolas do Rio Grande do Norte. RN SUSTENTÁVEL**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.rnsustentavel.rn.gov.br/smiv3/site/conteudos/midias/f4d69d8f19e0f0eb25865c75235bfb77.pdf>>. Acesso em: 17 nov. 2018.

OLIVEIRA, M. N. B. DE et al. Prevalência da brucelose bovina na região centro-oeste do Brasil. **Pubvet**, v. 14, n. 4, p. 1–7, abr. 2020.

ZHANG, N. et al. Animal brucellosis control or eradication programs worldwide: A systematic review of experiences and lessons learned. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 160, p. 105–115, 2018.

CONCLUSÃO GERAL

A situação epidemiológica da brucelose bovina no estado do Rio Grande do Norte, Brasil permanece desconhecida; principalmente pelo fato do Estado ainda não ter realizado estudo epidemiológico sistematizado que seja validado pelos órgãos de defesa animal internacionais.

Este trabalho de tese utilizou o diagnóstico molecular como ferramenta de vigilância em leite *in natura* e queijos de coalho oriundos de queijeiras artesanais do Rio Grande do Norte sem ter conseguido, no entanto, diagnosticar a presença do microrganismo *Brucella* spp no material analisado. Além disso, empregou estudo ecológico para conhecer e analisar os esforços do Estado para imunizar suas bezerras com idade entre 3 e 8 meses, correlacionando o número de animais imunizados contra brucelose - vacina B19 - e a população bovina no faixa etária vacinal, de 2015 a 2019, constatando ser baixíssima a adesão à vacinação e, nos anos estudados, não ter conseguido atingir as metas estabelecidas pelo PNCEBT.

No entanto, considera-se ser de grande a implementação de atividades educativas para que a população seja alertada sobre os riscos associados ao consumo de leite e derivados lácteos não pasteurizados.