

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE POSSE
CURSO DE TECNOLOGIA EM AGROPECUÁRIA**

KAMILA DIAS SAMPAIO

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA BRUCELOSE BOVINA

**Posse
Novembro de 2012**

KAMILA DIAS SAMPAIO

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA BRUCELOSE BOVINA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Estadual de Goiás, Unidade de Posse- GO, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Tecnólogo, do Curso Superior de Tecnologia em Agropecuária Orientador: Prof. *MSc.* Graciele Araújo de Oliveira

POSSE
NOVEMBRO DE 2012

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter estado em todo momento ao meu lado e ter me dado coragem para não desistir jamais de meus objetivos e estar concluindo este curso.

Agradeço aos meus pais Augusto e Julite Sampaio por tudo. Pois eles foram minha força, me ajudando, aconselhando, me tornando hoje a pessoa que sou. Minhas irmãs Simara e Karla, que sempre estão ao meu lado.

A professora Graciele Araujo, que não mediu esforços para me ajudar, me auxiliando com espírito crítico e confiando no meu desempenho sempre.

Agradeço ao Dr. Ronaldo e o Chefe, que me deram a oportunidade de aprender muito fazendo o estágio juntamente com eles, saindo muito mais confiante para atuar na área de trabalho.

Por último, as minhas novas amizades concebidas na faculdade, que elas durem tanto quanto foram intensas.

Escolha um trabalho que gostes, e não terás que trabalhar nem um dia de tua vida.

Confúcio

RESUMO

A brucelose é uma doença infectocontagiosa causada principalmente pela *Brucella abortus*, afetando diversas espécies de animais de produção. A transmissão da brucelose entre bovinos ocorre por via oral e genital, já o homem pode ser infectado por ingestão de leite e derivados, ou por contato com animais infectados e materiais de aborto. Em bovinos e bubalinos as brucelas têm tropismo pelo útero de animais prenhes e placenta, provocando placentite, aborto, natimortos ou bezerros debilitados e as consequências do aborto podem ser retenção de placenta, endometrite e infertilidade. A vacinação contra a brucelose é obrigatória, devendo ser vacinadas todas as fêmeas das espécies bovina e bubalina, na faixa etária de três a oito meses de idade. Em propriedades certificadas, recomenda-se que as bezerras, sejam vacinadas com até seis meses de idade. Após o acompanhamento das práticas durante o estágio obrigatório, foi possível observar como melhor método de controle a vacinação de animais, as vacinas B19 e RB51, essa segunda utilizada em animais com idade superior a oito meses. A vacina utilizada é a elaborada com a amostra 19 de *Brucella abortus* (B19), e sendo uma vacina viva atenuada, representa riscos de infecção para o manipulador, e por isso deve ser manipulada por profissionais treinados e capacitados. A implementação de programas de vacinação a nível nacional, tem como objetivos específicos baixar a prevalência e a incidência de novos casos de brucelose, bem como criar um número significativo de propriedades certificadas ou monitoradas que ofereçam ao consumidor produtos de baixo risco sanitário. O presente Trabalho de Conclusão de Curso busca enfatizar a importância do controle e profilaxia da Brucelose bovina, como uma zoonose infectocontagiosa, causadora de graves prejuízos na produção e reprodução de bovinos.

Palavra- chave: Brucelose, vacinação.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| INTRODUÇÃO | 8 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 9 |
| 2.1 Situação no Brasil | 9 |
| 2.2 Ocorrência em Goiás | 9 |
| 2.3 Epidemiologia | 10 |
| 2.3.1 Etiologia | 10 |
| 2.3.2 Mecanismos de Transmissão | 11 |
| 2.3.4 Resistência | 13 |
| 2.4 Diagnóstico | 16 |
| 2.4.1 Métodos Diretos | 16 |
| 2.4.2 Métodos Indiretos ou Sorológicos | 17 |
| 2.5 TESTES DE TRIAGEM..... | 18 |
| 2.5.1 Teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) | 18 |
| 2.5.2 Teste do Anel em Leite (TAL)..... | 18 |
| 2.5.3 TESTES CONFIRMATÓRIOS..... | 18 |
| 2.5.4 Teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME)..... | 18 |
| 2.5.5 Teste de Fixação de Complemento (FC)..... | 19 |
| 2.5.6 Controle da Brucelose | 19 |
| 3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS | 21 |
| 3.1. Informações Gerais..... | 21 |
| 3.2 Empresa..... | 22 |
| 3.3 Procedimentos para coleta de material para exame | 22 |
| 3.4 Identificação dos animais..... | 23 |
| 3.5 Coleta de amostras sanguínea | 23 |
| 3.6 Teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) | 24 |
| 3.7 Descartes das amostras sanguíneas positivas | 25 |

| | |
|----------------------------------|----|
| CONCLUSÃO..... | 26 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 27 |
| ANEXOS | 30 |

INTRODUÇÃO

A brucelose é uma doença infectocontagiosa, provocada por bactérias do gênero *Brucella*, e se dá pela transmissão dos animais para o homem. Trata-se de uma zoonose de distribuição universal, acarretando problemas sanitários importantes e inúmeros prejuízos econômicos (Mapa,2006).

A doença é causada por bactérias aeróbicas Gram negativas do gênero *Brucella spp*, que acomete os animais domésticos, que são respectivamente os portadores naturais daqueles agentes (Acha e Szyfres, 2003).

As principais manifestações nos animais são abortos, nascimentos prematuros, esterilidade ou baixa eficiência reprodutiva e baixa produção de leite, fatores estes que contribuem para uma considerável baixa na produção de alimentos (Poester, 2002).

A permanência destas bactérias no ambiente aumenta em determinadas condições, como na presença de sombra, umidade e baixas temperaturas. É recomendado que locais com altas taxas de contaminação fiquem expostas ao sol, que funcionam como um potente germicida, sendo sensível a pasteurização, à cal, cloro, cresol, fenol e formol que em concentrações certas são usados como desinfetantes (Mapa, 2006).

O método mais usado no combate à brucelose é a administração das vacinas (B19 e RB51), as quais são aplicadas em animais com idade superior a oito meses (Lage et al,2005). Também pratica-se a eliminação do rebanho de animais positivos aos testes diagnósticos, o mais rápido possível, evitando disseminação da doença aos animais susceptíveis (Crawford et al, 1990).

O presente trabalho de conclusão de curso tem como objetivo fornecer informações técnicas a respeito da brucelose em fêmeas bovinas adultas, além de contribuir para dados acerca da distribuição regional da doença.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Situação no Brasil

A brucelose bovina é uma doença endêmica brasileira, ou seja, qualquer fator mórbido ou doença espacialmente localizada, temporalmente ilimitada, habitualmente presente entre os membros de uma população e cujo nível de incidência se situe sistematicamente nos limites de uma faixa endêmica que foi previamente convencionada para uma população e época determinadas. Tendo sido diagnosticada em todos os estados da federação, contudo existem marcadas diferenças na prevalência da infecção por *B. abortus* (Poester et al, 2002).

Inquéritos soro epidemiológicos realizados no período de 2001 a 2004 em 13 unidades federativas (BA, ES, GO, MG, MT, PR, SC, RJ, RS, SP, SE, TO e DF), mostraram que a doença está disseminada em todas as áreas estudadas e que a situação é heterogênea entre os Estados e mesmo entre regiões de um mesmo Estado.

2.2 Ocorrência em Goiás

O estado de Goiás, localizado na região Centro-Oeste do Brasil, ocupa uma área geográfica de 340.086 Km² (IBGE, 2007). A pecuária goiana, altamente expressiva, posiciona o Estado entre os maiores produtores do País, com o rebanho bovino sendo formado por 21.347.881 milhões de cabeças, ocupando o 3º lugar no ranking brasileiro (IBGE, 2010).

Acypreste et al, 2002, utilizaram a prova do antígeno acidificado tamponado para estimar a prevalência de brucelose em vacas da bacia leiteira de Goiânia, num total de 45 propriedades e 870 animais. Observaram prevalências de 17,8 e 1,7% para propriedades e animais, respectivamente.

Dados da Agência Goiana de Defesa Agropecuária (Agrodefesa) indicam que nos últimos cinco anos houve redução no número de vacinações em relação a 2007,

estabilizando nos anos de 2008 e 2009 e aumentando a taxa em 2010 e no ano de 2012 o estado alcançou 99,23% de bovinos e bubalinos vacinados, sendo que 48 municípios goianos alcançaram 100% da meta de vacinação. No ano de 2010 foram vacinadas contra brucelose em Goiás 1.843.647 bezerras de três a oito meses de idade, o que corresponde a 90,12% do rebanho existente na faixa etária. A vacinação dos animais confere uma proteção aproximada de 75% contra a enfermidade e o aborto.

As condições geográficas, sociais e econômicas contribuem para a existência de diferentes sistemas de produção no Estado. Todos os estudos de prevalência de brucelose bovina em Goiás realizados até o momento foram pontuais, e mostram homogênea prevenção de distribuição regional da doença.

2.3 Epidemiologia

A Organização Internacional de Epizootias (OIE) classifica a brucelose como doença da lista B, onde estão incluídas as enfermidades que têm importância socioeconômica e/ou para saúde pública e consequências significativas no comércio internacional de animais e seus produtos (Paulin, 2003).

2.3.1 Etiologia

As bactérias do gênero *Brucella* são parasitas intracelulares facultativos, com morfologia de cocobacilos Gram- negativos, imóveis, podendo apresentar-se em cultivos primários com morfologia colonial lisa ou rugosa (rugosa estrita ou mucoíde). Essa morfologia está diretamente associada à composição bioquímica do lipopolissacarídeo da parede celular, e para algumas espécies tem relação com a virulência. As espécies *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*, normalmente apresentam uma morfologia de colônia do tipo lisa, quando evoluem para formas rugosas ou mucoídes, deixam de ser patogênicas. Já as espécies *B. ovis* e *B. canis* apresentam

uma morfologia de colônia permanentemente do tipo rugosa ou mucoíde (Mapa, 2006).

Dentro do gênero *Brucella*, são descritas seis espécies independentes, cada uma com seu hospedeiro preferencial:

Quadro 1: Espécies e seus diferentes hospedeiros preferenciais.

| Gênero (<i>Brucella</i>) | Hospedeiro Preferencial |
|---------------------------------|--------------------------------|
| Abortus | Bovinos e Bubalinos |
| Suis | Suínos |
| Ovis | Ovinos |
| Canis | Cães |
| Melitensis | Caprinos e Ovinos |
| Neotomae | Rato do deserto |

Fonte: Mapa, 2006.

Três novas espécies recentemente isoladas de mamíferos marinhos estão sendo estudadas: *B. Pinnipedialis* e *B. Ceti*: baleias e focas e *B. microti*: placentas, fluidos fetais (Mapa, 2006).

2.3.2 Mecanismos de Transmissão

Tanto os machos quanto as fêmeas são suscetíveis à doença, porém as fêmeas adultas ao eliminarem grande quantidade de *Brucella abortus* para o meio ambiente no momento do parto ou aborto e também durante todo o puerpério, e são as principais responsáveis pela propagação da infecção entre os animais (Paulin e Ferreira Neto, 2003). Eliminam essa secreção até aproximadamente 30 dias após o parto ocasionado de aborto ou não, contaminando pastagens, água, alimentos (Mapa, 2006).

Nos bovinos, a porta de entrada mais importante é o trato digestório, sendo que a infecção se inicia quando um animal suscetível ingere água e alimentos contaminados ou pelo hábito de lambe as crias recém-nascidas. Uma vaca pode adquirir a doença apenas por cheirar fetos abortados, pois a bactéria também pode entrar pelas mucosas do nariz e olhos (Mapa, 2006).

Os suínos que tem como principal agente a *B. suis*, mas pode ser contaminado pelas *B. abortus* e a *B. melitensis*, tem as mesmas fontes de infecção que os bovinos, suas principais vias de transmissão são a digestiva e a venérea, sendo a monta natural um modo comum e importante de transmissão da infecção (Acha e Szyfres, 2001).

No homem, a brucelose não está associada a sintomas característicos. Na fase aguda, são descritas dores musculares e variação ondulante de temperatura, similares aos de uma gripe forte. Por serem os sintomas inespecíficos, é importante que aquelas pessoas, principalmente pertencentes aos grupos de risco e que possam ter sido expostas, alertem os médicos que as assistem sobre a possibilidade da doença. O homem se infecta pelo contato do agente com mucosas ou ferimentos. Nos grupos ocupacionais de maior risco (veterinários, trabalhadores de matadouros, etc) isto ocorre durante manipulações de material de aborto ou parto e de carcaças de animais infectados. Outra fonte de contaminação importante para a população em geral é a ingestão de alimentos contaminados, entre eles o leite cru, produtos lácteos preparadas com leite cru e carne crua ou mal cozidas.

A principal forma de entrada da brucelose em uma propriedade é a introdução de animais infectados. Quanto maior a frequência de introdução de animais, maior o risco de entrada da doença no rebanho. Por essa razão, deve-se evitar introduzir animais cuja condição sanitária é desconhecida, o ideal seja que esses animais procedam de rebanhos livres, ou, sejam submetidos a uma rotina diagnóstica (Mapa, 2006).

2.3.3 Sinais Clínicos e Lesões

Os principais sinais clínicos observados nos animais infectados estão ligados a problemas reprodutivos (Silva et al, 2005). Após a infecção, o aborto quase sempre acontece na primeira gestação, mas em decorrência do desenvolvimento da

imunidade celular, é pouco freqüente na segunda gestação após a infecção, e muito raro nas subseqüentes (MAPA, 2006).

O feto geralmente é abortado 24 a 72 horas depois de sua morte, sendo comum sua autólise, em rebanhos onde a infecção é crônica, os abortos irão se concentrar nas fêmeas primíparas e nos animais sadios recentemente introduzidos (Mapa, 2006).

Em machos é mais freqüente a localização nas glândulas genitais anexas e testículos, podendo aumentar ou diminuir de tamanho os testículos, causando infertilidade, em alguns casos a infecção resulta em orquite, epididimite e vesiculite seminal (Acha e Szyfres, 2001).

Das seis espécies classicamente reconhecidas no gênero *Brucella*, quatro são comprovadamente patogênicas para humanos: *B. Melitensis*; *B. Suis*; *B. Abortus* e *B. Canis*, incluindo a amostra vacinal B19, *B. abortus* (Centers for Disease Control, 2008). O período de incubação da brucelose dura de uma a três semanas, podendo prolongar-se por vários meses (Mapa, 2006).

Dentre vários sintomas em humanos os mais comuns são: febre contínua calafrios, sudorese, insônia, impotência sexual, emagrecimento, dor de cabeça, e articulações. Gerando irritabilidade, por abalar o sistema nervoso (Acha e Szyfres, 2001).

2.3.4 Resistência

As bactérias do gênero *Brucella*, apesar de permanecerem no ambiente, não se multiplicam nele e são medianamente sensíveis aos fatores ambientais. Entretanto, a resistência diminui em ambiente com elevada/alta temperatura e luz solar direta, além de diminuir a umidade. A pasteurização é um método eficiente de distribuição da *Brucella sp*, em produtos como o leite, assim como as radiações ionizantes (Mapa, 2006).

A *B.abortus* é sensível à desinfetantes como o cloro, cresol, fenol e formol, em concentrações ideais, que devem ser utilizados na desinfecção de instalações, utensílios e ambiente (Russel et al, 1984).

A sobrevivência de *Brucella sp* em esterco líquido é inversamente proporcional à temperatura dele, podendo sobreviver nesse material por até 8 meses a 15°C, enquanto que só resiste por 4 horas se a temperatura do material for de 45°50°C (Mapa, 2006).

Quadro 2- Resistência de *Brucella sp* no ambiente.

| Condição Ambiental | Tempo de Sobrevivência |
|---------------------------|-------------------------------|
| Luz solar direta | 4-5 horas |
| Solo seco | 4 dias |
| Solo úmido | 65 dias |
| Fezes | 120 dias |
| Esgoto | 240 dias |
| Água potável | 5-114 dias |
| Água poluída | 30-150 dias |
| Exsudato uterino | 200 dias |

Fonte: Wray C. 1975.

Quadro 3 – Resistência de *Brucella sp* em alimentos.

| Alimento | Tempo de Sobrevivência |
|-----------------|-------------------------------|
| Leite | 17 dias |

| | |
|-------------------------------|------------------|
| Leite congelado | mais de 800 dias |
| Queijos | até 6 meses |
| Manteiga | até 4 meses |
| Iogurte | até 96 dias |
| Temperatura de 60 °C | 10 minutos |
| Temperatura de 71,7 °C | 15 segundos |

Fonte: Wray C. 1975.

Quadro 4 – Sensibilidade a desinfetantes do *Brucella SP.*

| Desinfetantes | Quantidade |
|--------------------------|-------------------|
| Álcool 96 GL | 96 GL |
| Hipoclorito de Na | 5% |
| Hipoclorito de Ca | 5% |
| Formol | 3% |
| Fenol | 5% |

Fonte: Mapa, 2006.

2.4 Diagnóstico

O diagnóstico da brucelose nos dias de hoje, pode ser feito por dois meios de identificação: Métodos Diretos, identificando o agente e Métodos Indiretos detectando anticorpos contra *B. Abortus*.

2.4.1 Métodos Diretos

Os métodos diretos incluem o isolamento e a identificação do agente, imunohistoquímica, e métodos de detecção de ácidos nucleicos, principalmente a reação da polimerase em cadeia (PCR) (Mapa, 2006).

Poester et al (2005), consideram o isolamento e identificação como técnica de referência para diagnóstico da brucelose, porém, sendo um processo demorado e dependente de laboratórios especializados e com segurança biológica, pois a *Brucella sp* é classificada como microrganismo de nível 3 de biossegurança. Esse tipo de método usa material de abortos, como: feto, conteúdo estomacal de feto, placenta ou secreções.

A técnica imunohistoquímica pode ser procedida em material de aborto após a fixação em formol e permite tanto a identificação do agente como a visualização de aspectos microscópicos do tecido examinado (Mapa, 2006).

O PCR detecta um segmento de DNA específico da *B. abortus* em material de aborto, em secreções e excreções. É uma técnica bastante sensível e específica, mas requer equipamento sofisticado e pessoal treinado (Mapa, 2006).

2.4.2 Métodos Indiretos ou Sorológicos

Testes sorológicos baseiam-se na reação entre antígenos de *Brucella sp*, células inteiras inativas ou suas frações purificadas, e anticorpos produzidos em resposta a uma infecção, os anticorpos produzidos por espécies lisas de *Brucella* (*B.abortus*, *B.melitensis* e *B. suis*) reagem cruzadamente com antígenos preparados com amostras lisas, geralmente *B. abortus*, e anticorpos produzidos por espécies rugosas de *Brucella* (*B.ovis* e *B. canis*) reagem cruzadamente com antígenos produzidos com amostras rugosas, geralmente *B. ovis* (Nielsen, 2002; Poester et al, 2005).

Estes testes visam demonstrar a presença de anticorpos contra *Brucella sp* em vários fluidos corporais como soro sanguíneo, leite, muco vaginal e sêmem.

Podem ocorrer as reações falso-positivas que são decorrentes de dois fatores distintos: Primeiramente a reação pode ocorrer devido à presença de anticorpos não específicos presentes nas infecções por outras bactérias, como *Yersinia interocolitica* 0:9, *Salmonella sp*, *Escherichia coli* 0:157, ou *Pseudomonas sp*. O segundo podem decorrer como resultado da vacinação com B19 após a idade recomendada (Mapa, 2006).

Hoje o PNCEBT (Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose) tem como oficiais os seguintes testes: Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), Anel em Leite (TAL), 2-Mercaptoetanol (2-ME) e Fixação de Complemento (FC). Os dois primeiros como testes de triagem, os dois últimos como confirmatórios (Mapa, 2001).

2.5 TESTES DE TRIAGEM

2.5.1 Teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT)

O método consiste em colocar 0,03ml do soro em contato com 0,03ml do antígeno em uma placa de vidro quadriculada, homogeneizar e manter a placa em movimentos rotatórios lentos e constantes até o momento da leitura, que é feita após três minutos de reação, observando com o auxílio de uma caixa com luz (ou aglutinoscópio), se há ocorrência dos grumos de aglutinação (resultado positivo) ou não (resultado negativo). O antígeno empregado nessa técnica é de suspensão celular inativa de *Brucella abortus* amostra 1119-3, corada com rosa de bengala, diluída a 8,0% de volume celular, PH 3,63. O AAT detecta com maior precocidade as infecções recentes, sendo, nesse aspecto, superior à prova lenta em tubos (Mapa, 2006).

2.5.2 Teste do Anel em Leite (TAL)

Feito através de várias misturas de leite de vários animais emprega-se antígenos corados com hematoxilina, que dá a cor azul característica à reação positiva. Se existirem anticorpos no leite, eles se combinarão com as *B. abortus* do antígeno, formando uma malha de complexo antígeno-anticorpo que, por sua vez, será arrastada pelos glóbulos de gordura, fazendo com que se forme um anel azulado na camada de creme do leite (reação positiva). Não havendo anticorpos presentes, o anel de creme terá a coloração branca, e a coluna de leite permanecerá azulada (reação negativa). Trata-se de um teste muito utilizado e de grande valor, mas podendo ocorrer reações falso-positivas com leites ácidos (Mapa, 2006).

2.5.3 TESTES CONFIRMATÓRIOS

2.5.4 Teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME)

Destaca-se como prova confirmatória nos testes de triagem. Esta prova apresenta seletividade para imunoglobulinas da classe IgG, pois, em função dos radicais tiol do 2-mercaptoetanol, as IgM são destruídas. Por não serem tão afetadas pelo 2-mercaptoetanol e por serem as imunoglobulinas presentes em infecções crônicas, as IgG presentes em um soro significam infecção por *B. abortus* (Poester *et al.*, 2005).

Resultados positivos na prova lenta e negativos no 2-ME devem ser interpretados como reações inespecíficas ou como devido a anticorpos residuais de vacinação com B19. Resultados positivos em ambas as provas indicam a presença de IgG, que são as aglutininas relacionadas com infecção, devendo os animais ser considerados infectados (Mapa, 2006).

2.5.5 Teste de Fixação de Complemento (FC)

Esse teste é recomendado pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), sendo muito utilizado em países que conseguiram erradicar ou estão em processo de erradicação da doença. Na brucelose bovina, apesar de a FC detectar tanto IgG1 como IgM, o isotipo IgG1 é muito mais efetivo como fixador do complemento. Este teste é complexo, e requer pessoal especializado. Animais infectados permanecem positivos por períodos mais longos e com títulos de anticorpos fixadores de complemento mais elevados do que os detectados nas provas de aglutinação. Em animais vacinados acima de 8 meses de idade, os anticorpos que fixam complemento desaparecem mais rapidamente do que os aglutinantes (Mapa, 2006).

2.5.6 Controle da Brucelose

A sistematização de medidas sanitárias, seja em um rebanho ou uma região, estado ou país é de grande importância para o sucesso no controle e erradicação da brucelose. O emprego de programas de vacinação sistemática dos animais jovens

com vacinas vivas tem conseguido diminuir o número de animais susceptíveis à infecção por *B. abortus* (Lage et al, 2005).

Uma das mais poderosas estratégias na estruturação de um programa de controle de brucelose bovina é a vacinação, principalmente a vacinação de fêmeas jovens com B19. Esta vacinação de animais jovens associada à vacinação estratégica com RB51 em fêmeas com idade superior a oito meses acarreta um aumento da cobertura vacinal, de tal forma que diminui a percentagem de indivíduos susceptíveis da população, diminui a taxa de abortos e, conseqüentemente, diminui a taxa de infecção (Schurig et al, 2002; Lage et al, 2005).

Programas de desinfecção e utilização de piquetes de parição são iniciativas simples que trazem como resultado a diminuição da quantidade de brucelas vivas presentes no ambiente. Isso representa diminuir a dose de desafio, o que, por sua vez, significa aumentar os índices de proteção da vacina e diminuir a chance de a bactéria infectar um novo suscetível (Mapa, 2006).

Outra importante forma de controle da brucelose bovina é a eliminação dos animais reagentes positivos aos testes sorológicos, pois, muitas vezes, a introdução da brucelose no rebanho faz-se a partir da compra de bovinos aparentemente sãos que, no entanto, estão infectados pela bactéria *Brucella abortus* (Castro K; 2009).

A vacinação de bezerras com a amostra B19, em todo o território nacional, está entre as ações obrigatórias do PNCEBT (Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal). Sua implantação, na maioria dos estados, já ocorria no início de 2004, com exceção de algumas partes da região norte e nordeste. O estado de Santa Catarina é uma exceção à implantação da vacinação obrigatória, em função da baixa prevalência da doença neste estado (Lage et al, 2005).

A vacinação com a amostra RB51, em animais com idade superior a oito meses, foi aprovada recentemente pelo MAPA. Esta amostra não interfere no diagnóstico sorológico, pela sua característica rugosa (Schuring et al, 2002).

A utilização desta vacina tem por objetivo aumentar a imunidade do rebanho, sem interferir no diagnóstico, levando a uma diminuição mais rápida das taxas de prevalência e incidência da brucelose (Lage et al, 2005).

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCETB) tem como objetivo específico, baixar a prevalência e a incidência de novos casos de brucelose e tuberculose, bem como, criar um número significativo de propriedades certificadas ou monitoradas que ofereçam ao consumidor produtos de baixo risco sanitário.

3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

3.1. Informações Gerais

O estágio curricular foi realizado no Laboratório São Lázaro, de 02 de Janeiro a 29 de Fevereiro, localizado no município de Posse-GO, onde foram realizadas visitas a várias fazendas onde foram coletadas amostras de sangue, para realização de exames diagnóstico da brucelose.

Os exames foram realizados com os seguintes objetivos:

- Venda de animais e matrizes;
- Transporte de animais para exposição (necessário para tirar GTA);
- Projetos (retirada de empréstimo, tendo animais como garantia); controle da doença.

No dia 3 de Janeiro, na fazenda Santa Cruz, propriedade que trabalha com Nelore PO, localizada no município de Iaciara-Go, foram realizadas coletas de amostra sanguínea de 20 animais, com intuito de retirada de GTA para exposição.

No dia 26 de Janeiro, na fazenda Salobro, localizada no município de Iaciara-Go, foram realizadas coletas de amostras sanguínea de 250 animais, com intuito de realizar projeto para retirada de empréstimo, tendo os animais como garantia.

3.2 Empresa

A empresa São Lázaro tem como proprietário e médico veterinário o senhor Dr. Ronaldo Pires Garcia, trabalha com exames laboratoriais de Brucelose, AIE (Anemia Infecciosa Eqüina) e Tuberculose. Em sua equipe conta com um assistente técnico Francisco Joselito e a secretaria Dhene Lopes.

Durante o período de estagio, onde atuei na parte de brucelose: coleta de material, auxilio em exames e normativas da doença tive um período baseado em muita prática, onde ao término do mesmo me senti preparada para execução do trabalho.

O laboratório tem como política de qualidade oferecer um serviço de qualidade visando sempre à satisfação e fidelização permanente do cliente. Manter e melhorar continuamente os serviços prestados pelo laboratório, envolvendo todos os setores e funcionários dentro das normas da gestão de qualidade em conformidade com os requisitos da NBR ISO/IEC 17.025: 2005. Assegurar o controle de qualidade nas etapas do processo. Manter e melhorar, continuamente o Sistema de Gestão comprometido com os princípios de ética, imparcialidade e livre de pressões externas.

Conforme essa política de qualidade tirei base de que pra ser um bom profissional não é preciso apenas ter uma boa prática, mas além da prática ser um profissional que visa a qualidade do serviço de todas as formas seguindo as normas e as leis para que o serviço seja de qualidade total.

3.3 Procedimentos para coleta de material para exame

Antes de qualquer trabalho ser realizado, é necessário que o produtor assine um termo de compromisso, onde se compromete a marcar os animais positivos a ferro do lado direito da cara com a letra "P", e também se compromete a manter o animal na propriedade até que a AGRODEFESA, órgão responsável da região faça o sacrifício do animal, ou ele seja vendido com preços reduzidos para frigoríficos.

A prática da venda de animais positivos para frigoríficos é permitida. Os animais positivos que ficam separados dos demais, só são abatidos após o abate dos sadios. Após a finalização do abate dos positivos, deve haver uma higienização do local, tornando-o novamente apto ao sacrifício de animais sadios.

3.4 Identificação dos animais

A identificação é utilizada para que os animais sejam identificados caso o resultado seja positivo, ela pode ser feita com marca de fogo, brinco ou marca fria. No caso do laboratório onde foi realizado o estágio curricular, eles trabalham com a marca fria Marfix que é usada com um ferro comum de marcar, tendo como principal ativo, hidróxido de sódio, que é aplicado no couro do animal deixando uma marca nítida e durável, podendo identificar o animal até o resultado do exame.

Trata-se de um controle seguro e muito utilizado na região, um produto prático e que causa menor agressão no couro do animal marcando superficialmente.

3.5 Coleta de amostras sanguínea

Inicialmente, os animais são contidos no curral de forma que após a vacinação não se misturem com os já vacinados. A coleta poderá ser realizada de diversas formas dentre elas: Coccígena (Cauda); Veia jugular (pescoço) e Mamaria (barriga). A retirada Coccígena (cauda) é o mais utilizado na atualidade, devido sua maior facilidade e agilidade, pois em alguns casos o número de animais é muito elevado.

O método consiste em levantar a cauda do animal procurando a veia que fica no centro da mesma e com uma seringa e retirado no mínimo 3ml de sangue do animal, sendo colocado de preferência lentamente e com o tubo mais inclinado para que haja formação de um soro de boa qualidade, mantendo a amostra em local ao abrigo do sol para que o sangue não seja hemolizado, caso ocorra não será possível a realização do exame.

Com o auxílio de uma centrífuga o sangue com pouca ou que não tenha sorado, pode ser colocado na mesma, que com rotações muito rápidas consegue produzir mais soro.

Todo procedimento deve ser feito com maior cuidado e com luvas e material especializado, para que não ocorra infecção dos profissionais.

3.6 Teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT)

Dentre os vários testes existentes, o AAT é o utilizado na realização dos exames no laboratório São Lázaro. O antígeno utilizado é produzido no Instituto de Tecnologia do Paraná TECPAR, com licença do Mapa nº 3362/90.

Para se realizar o exame são necessários os seguintes materiais:

- Placa de vidro com divisores
- Misturador de metal
- Antígeno para AAT
- Amostra dos soros
- Pipetas semi-automáticas de 0,03ml
- Conta gotas 0,03ml por gota de antígeno

Ponteiras

Caixa de luz para leitura

Para realização dos exames, deve-se haver uma sala própria livre de altas temperaturas de preferência com ar condicionado, pois nossa região é de clima seco e altas temperaturas.

Com luvas, e usando-se pipetas com as ponteiros diferentes para cada amostra de soro, o soro é colocado em cada quadrado da placa de vidro e após é colocado o antígeno ao lado do soro, com o misturador de metal é feita a mistura para que ocorra a reação tomando cuidado com o misturador que deve ser higienizado a cada mistura de amostra, após a mistura, manter a placa em movimentos rotatórios por 3 minutos, com precaução para que amostras não se misturem. Após esse período a placa é colocada na caixa de luz e é feita a leitura, se houver grumos de aglutinação a reação é positiva e se não o resultado será negativo, havendo caso de reações falso-positivas o teste deve ser feito novamente.

3.7 Descartes das amostras sanguíneas positivas

Após o resultado dos exames o sangue que é conservado em geladeira própria, é retirado dos tubos e feito a autoclavação, que é uma forma eficaz de inativação de micro-organismos em sangues soropositivos.

CONCLUSÃO

A brucelose é uma doença de abrangência nacional, que representa risco à saúde pública, diminuição da produtividade dos rebanhos infectados com elevadas perdas econômicas para o produtor e, uma possível diminuição da competitividade do produto nacional, bovinos, carne, leite e derivados, no comércio internacional.

O método de controle é considerado fácil, mas alguns produtores deixam de realizá-lo, percebendo a infecção quando os prejuízos se tornam maiores.

No estado de Goiás a doença não é tão representativa, principalmente pela adesão voluntária de grande parte dos produtores ao programa de vacinação e controle da brucelose bovina, melhorando a produção da região que é um dos grandes pólos em produção de carne e leite no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA P.N.; Szyfres B. **Zoonoses and comicable diseases comon to and animals**. 3 ed. Washington Pan American Health Organization, 2003.

ACHA P.N.; Szyfres B. **Zoonosis y Enfermidades Transmisibles Comunes al hombre y a los animales**. Terceira Edição, V. I, Bacteriosis y Micosis. Washington,2001.

ACYPRESTE, C. V.; SILVA, L. A. F.; MESQUITA, A. J. et al. **Diagnostico da frequência da brucelose bovina em vacas e lactação na bacia leiteira de Goiânia pelas provas do anel de leite e rosa bengala**.

AGRODEFESA: Agência Goiana de Defesa Agropecuária. **Aumento relativo da vacinação no estado de Goiás**. Goiânia, 2012. Disponível em: www.agrodefesa.go.gov.br. Acessado em: 07 Agosto 2012.

ANUALPEC: **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Agroinformativos, 2003. 400p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose animal**. Brasília, 2001.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária- Departamento de Saúde Animal. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose, PNCEBT: Manual Técnico**. Brasília, 2006.190p.

CASTRO, K.N.C.; GABRIEL, A.M.A. **Porque preocupar-se com a brucelose bovina**. 2009. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com>.

Acessado em:01/05/2012.

CRAWFORD, R. P.; HUBER J. D.; ADAMS B. S. **Epidemiology and surveillance**.

In: NIELSEN K.; DUNCAN J.R. Animal Brucellosis. 1990. P151.

IBGE. **Situação da Pecuária no estado de Goiás**. Disponível em:

<http://www.sidra.ibge.gov.br>. Rio de Janeiro, 2010. Acessado em: 07 Agosto 2012.

LAGE AP, Poester FP, Gonçalves VSP, Roxo E, Müller EE, Cavalléro JCM, FerreiraNeto JS, Motta PMPC, Figueiredo VCF, Lôbo JR. **Programa nacional de controle e erradicação da brucelose e tuberculose**. Cad. Tec Vet. Zootec, n.47, p.99-110, 2005.

MAPA, **Manual técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose – PNCEBT**. Brasília, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/DAS, 2006. 184p.

NIELSEN K. **Diagnosis of brucellosis by serology**. Vet. Microbiol, v 90, p. 447-459, 2002.

PAULIN, L. M.; FERREIRA NETO, J.S. **O combate a brucelose bovina: Situação brasileira**. Jaboticabal: FUNEP, 2003,154p.

POESTER, F. P.; Brucella In: GUERREIRO M. G.; et al. **Bacteriologia Especial**. Porto alegre: Sulina,1984. 214p.

POESTER, F. P., Gonçalves V. S. P., Lage A. P. **Brucellosis in Brazil**. Vet Microbiol, v. 90, p.55-62, 2002.

POESTER, F, P, SAMARTINO, L,E.; LAGE, A. P. **Diagnostico da brucelose bovina**. Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia. Belo Horizonte. P.13-26. Abr, 2005.

RUSSEL A. D.; YARNYCH V. S.; KOULIKOVISKII A. V. (ed.) **Guidelines on disinfection in animal husbandry for prevention and control zoonotic diseases.**

World Health Organization, 1984.

SCHURIG G.G.; SRIRANGANATHAN N.; CORBEL M. J. **Brucellosis vaccines: past, present and future.** Vet. Microbiol, v.90.2002.

SILVA F.L.; Paixão T.A.; Borges A.M.; Lage A.P.; Santos R. L. **Brucelose Bovina.**

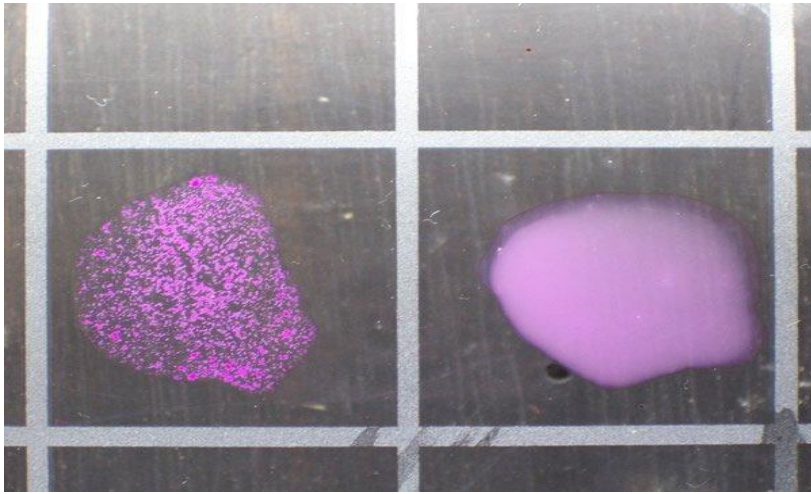
Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia, n 47. P.12, 2005.

WESTER, J.C.G. **Brucelose Bovina e os Riscos para a Saúde Humana.**

Informativo Técnico DPA, N°03, Junho, 2001.< f>. Data de acesso: 21/08/2012.

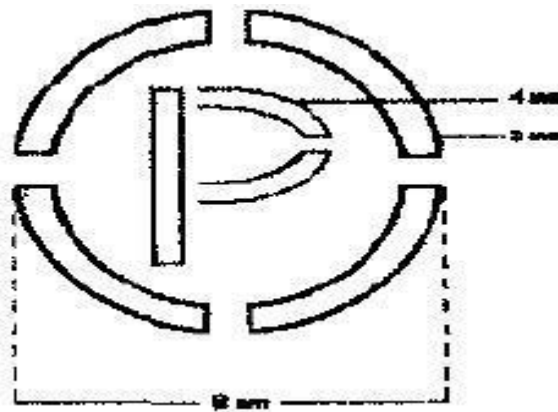
WRAY, C. **Survival and spread of pathogenic bacteria of veterinary importance within the environment.** Vet Bull,v. 45, p.543-550, 1975.

ANEXOS



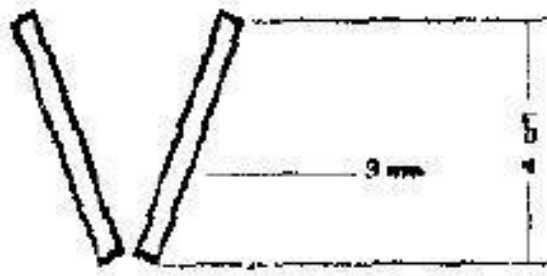
Fonte: <http://www.brunobangel.com.br>

Figura 1: Foto resultado positivo e negativo de Brucelose, feito com rosa bengala.



Fonte: <http://www.editoramagister.com>

Figura 2: Marca de ferro para marcação de animal positivo para Brucelose.



Fonte: <http://www.editoramagister.com>

Figura 3: Marca de ferro utilizada após vacinação de animal, deve conter o ano de vacinação ao lado da marca V.



Fonte: <http://www.cptcursospresenciais.com.br>

Figura 4: Animal com marca após vacinação.