
**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Brucella ovis*
E ANTI-*Brucella abortus* EM OVINOS
DO MUNICÍPIO DE COLINAS, TOCANTINS, BRASIL**

Nekita Êvely Ximenes Martins¹, Jefferson Douglas de Moura Almeida¹, Marco Giannoccaro Silva¹, Marlos Gonçalves Sousa¹, Luis Antônio Mathias² e Katyane de Sousa Almeida¹

RESUMO

A brucelose é uma enfermidade infecciosa, causada por bactérias do gênero *Brucella* spp. responsáveis por distúrbios reprodutivos nos animais, especialmente nos ruminantes. Este trabalho objetivou determinar a presença de anticorpos anti-*Brucella ovis* e anti-*Brucella abortus* em ovinos de 14 propriedades cadastradas na Associação de Ovinocultores do município de Colinas, Tocantins, Brasil. Para isso, amostras de soro de 450 ovinos foram analisadas por meio da aglutinação rápida em placa com Antígeno Acidificado e Tamponado (AAT) e, quando reagentes, foram realizados os testes de Aglutinação Lenta em Tubos (SAT) e 2-Mercaptoetanol (2-ME) para pesquisar cepas lisas (*B. abortus*). Para a pesquisa de cepas rugosas (*B. ovis*), foi realizada a Imunodifusão em Gel de Agar (IDGA) e, quando reagente, foi realizada a Fixação de Complemento (FC). Das amostras analisadas, 142 (31,6%) reagiram ao teste de IDGA, dentre estas, apenas 4 (2,8%) foram confirmadas na FC. Ante o AAT, apenas 20 (4,4%) se mostraram positivas, das quais 14 (70%) foram confirmadas no SAT/2-ME. Os resultados obtidos nos testes de FC e SAT/2-ME e analisados pelo Teste de Fisher e OR demonstraram significância estatística entre a positividade e a faixa etária, sendo maior a chance de um animal em reprodução ser positivo para brucelose.

DESCRITORES: Brucelose; epididimite; testes sorológicos.

ABSTRACT

Prevalence of anti-*Brucella ovis* and anti-*Brucella abortus* in sheep in the city of Colinas, Tocantins, Brazil

Brucellosis is an infectious disease caused by bacteria of the genus *Brucella*, responsible for reproductive disorders in animals, especially ruminants. This study aimed to determine the presence of antibodies against *Brucella ovis* and *Brucella abortus* in sheep of 14 registered properties of the

-
- 1 Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins, BR 153, km 112, s.n., Zona Rural, CEP: 77804-970, Araguaína-TO, Brasil. E-mail: nekita@uft.edu.br
 - 2 Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil.

Recebido para publicação em: 18/6/2012. Revisto em: 15/4/2013. Aceito em: 7/5/2013.

Sheep Breeders Association in the city of Colinas, Tocantins, Brazil. Four hundred and fifty serum samples from ovines were collected, analyzed by rapid plate agglutination with acidified buffered antigen and when positive, were analyzed by the technique of slow agglutination in tubes (SAT) and 2-mercaptoethanol (2-ME), to search for smooth strains (*Brucella abortus*). The search for rough strains (*Brucella ovis*) was performed with agar gel immunodiffusion (AGID) and the samples that reacted were further tested by the complement fixation test (CFT). From the analyzed samples, 31.6% reacted in the AGID test. Among these, only 2.8% were confirmed positive by CFT. In the sera analyzed by rapid plate agglutination with acidified buffered antigen, 4.4% were positive, among them, 70% were confirmed positive by the 2-ME test. The results obtained in CFT and SAT/2-ME, when analyzed by the Fisher's exact test and OR, showed statistical significance between positivity and age, showing that there was a greater chance of occurrence of brucellosis in a breeding animal.

KEY WORDS: Brucellosis; epididymitis; serological tests

INTRODUÇÃO

O gênero *Brucella* spp. inclui as espécies *B. mellitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae* e *B. microti* (Xavier et al., 2009), mas as novas espécies *B. ceti*, *B. pinnipedialis* e *B. inopinata* foram incluídas no gênero durante alteração realizada pelo *International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee on the Taxonomia of Brucella* (Icsp, 2010).

A brucelose em ovinos é uma doença infecciosa crônica, causada especificamente por *B. ovis* (Robles, 1998) e caracterizada por lesões genitais que redundam em epididimite e sêmen de qualidade variável (Megid; Mathias; Robles, 2010). Dessa forma, pode resultar em subfertilidade ou infertilidade nos machos (Carvalho Junior et al., 2010), abortamentos nas fêmeas e mortalidade de cordeiros (Xavier et al., 2009). *B. mellitensis* e raramente *B. abortus* também podem causar a doença em ovinos, estando a ocorrência dessas bactérias associada à criação consorciada de caprinos, bovinos e ovinos (Ocholi et al., 2005). *B. mellitensis* ainda não foi diagnosticada no Brasil (Brasil, 2006).

Os animais domésticos e silvestres são importantes fontes de infecção (principalmente os ruminantes) ao excretarem grande quantidade de bactérias junto com os anexos placentários, leite e secreções genitais, os quais constituem as vias de eliminação do agente (Castro; Gonzalez; Prat, 2005).

A transmissão da brucelose pode ocorrer por contato direto com tecidos de animais infectados e pela via transplacentária e por contágio indireto, pela ingestão de alimentos e água contaminados (Castro; Gonzalez; Prat, 2005), fômites e inseminação artificial (Brasil, 2006). As vias venérea e digestiva constituem as principais formas de transmissão entre os ovinos (Estein, 1999). Já a penetração das brucelas no organismo dos hospedeiros se dá pelas vias digestiva e respiratória e pelas mucosas conjuntival, prepucial e vaginal, além da pele lesionada (Brasil, 2006), destacando-se a mucosa genital para *B. ovis* e a via digestiva para *B. abortus* (Lira e Megid, 2009).

As lesões causadas tanto por *B. ovis* quanto por *B. abortus* se restringem ao trato reprodutor. Nos machos, concentram-se no epidídimo, testículo e vesículas

seminais (Carvalho Junior et al., 2010; Paulin, 2003); nas fêmeas, *B. ovis* ocasiona cervicite e endometrite, podendo ou não estar associada a abortamentos (Carvalho Junior et al., 2010), ao passo que *B. abortus* geralmente está envolvida em abortamentos e retenção placentária, principalmente em vacas e búfalas (Paulin, 2003). Assim, percebe-se uma predileção das brucelas pelo trato genital, no qual se encontra maior disponibilidade de eritritol, um álcool que é utilizado pelo micro-organismo como fonte de energia para seu crescimento (Gul e Kan, 2007).

O tratamento para brucelose em animais de reprodução não é indicado pelo Plano Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) (Brasil, 2006), por isso o diagnóstico preciso e seguro se torna necessário para a implantação de um controle racional e erradicação da doença (Mólnar et al., 2002). O diagnóstico mais confiável da doença é obtido por meio de isolamento e identificação do micro-organismo em animais suspeitos (Pinheiro Junior et al., 2008). Entretanto, essa técnica tem sensibilidade limitada, custo elevado e execução demorada. Diante disso, os métodos indiretos baseados em testes sorológicos são amplamente utilizados em programas de controle e erradicação da doença (Jardim et al., 2006).

Os testes do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), 2-Mercaptoetanol e Fixação do Complemento (FC) são as principais provas para a detecção de anticorpos anti-*B. abortus* e anti-*B. mellitensis* (Ferreira et al., 2003). Já o teste de Polarização Fluorescente (TPF) foi aprovado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como teste confirmatório para cepas lisas (Brasil, 2010).

O diagnóstico da *B. ovis* é realizado por meio da Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA), teste padrão de triagem utilizado nos laboratórios credenciados pelo MAPA, além do teste de Fixação de Complemento como confirmatório para *B. ovis* (Brasil, 2004). Mesmo diante de tantos testes, reações cruzadas na triagem para diagnóstico de cepas lisas e rugosas podem resultar em falso-positivos em razão de os antígenos serem compostos por estruturas presentes na parede celular das brucelas semelhantes às de outras bactérias gram-negativas, como *Yersinia* spp., *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Pseudomonas* spp. (Brasil, 2006).

Em razão da escassez de dados sobre a ocorrência da brucelose e de a ovinocultura garantir uma complementação de renda para o pequeno produtor rural de Colinas, estado do Tocantins, objetivou-se determinar a presença de anticorpos anti-*Brucella ovis* e anti-*Brucella abortus* em ovinos oriundos das propriedades rurais cadastradas na Associação de Ovinocultores daquele município.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no período compreendido entre os meses de março e maio de 2011, em 14 propriedades com criação de ovinos cadastradas na Associação de Ovinocultores do município de Colinas, estado do Tocantins,

Brasil. Tais propriedades receberam visitas técnicas para a coleta das amostras de sangue e a aplicação de questionários aos produtores rurais visando à obtenção de informações sobre: alimentação, fonte de água, sistema de criação, distúrbios reprodutivos, manejo sanitário, assistência veterinária, contato com outros animais e conhecimento da doença em ovinos.

A amostragem foi constituída por animais mestiços, considerando-se duas categorias produtivas: animais jovens e em reprodução. Dentro de cada categoria, foram examinados 20% do total de animais em cada propriedade, exceção feita aos machos reprodutores que foram examinados em sua totalidade. Foram coletadas, aleatoriamente, 450 amostras de sangue de ovinos, sendo 120 animais jovens e 330 em reprodução.

Para o cálculo da amostra, utilizou-se o Programa Integrado para uso em Epidemiologia – Epi Info 6.04. Considerou-se a possibilidade de detecção da doença em 50% (correspondente a doenças de ocorrência desconhecida em determinada população), o intervalo de confiança de 95% e um erro estatístico de 5%, resultando em N amostral de 369 animais, ao qual foram acrescentados 10% para reduzir potenciais perdas.

As amostras foram obtidas assepticamente por punção da veia jugular externa, sem anticoagulante, e enviadas em caixa isotérmica com gelo reciclável ao Laboratório de Higiene e Saúde Pública da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Araguaína. No laboratório, foram centrifugadas a 800g por 10 minutos para separação do soro, alíquotadas em microtubos de poliestireno em duplicata e armazenadas a -20°C até o momento da realização dos testes sorológicos.

Para a pesquisa de cepas lisas (*Brucella abortus*), o teste de triagem foi a prova de aglutinação rápida em placa com Antígeno Acidificado Tamponado (AAT). Quando se mostraram reagentes na triagem, os soros foram submetidos aos testes de Soroaglutinação Lenta em Tubos (SAT) e 2-Mercaptoetanol (2-ME), segundo o protocolo do manual técnico do PNCEBT (BRASIL, 2006). Para a pesquisa de cepas rugosas (*B. ovis*), foi realizada a IDGA, segundo a descrição do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). Os soros reagentes foram submetidos ao teste confirmatório de FC, conforme descrição de Alton et al. (1988).

Após as análises laboratoriais, deu-se prosseguimento aos cálculos estatísticos. Assim, para o cálculo da frequência de cada cepa, dividiu-se o número de animais sorologicamente positivos pelo número de animais amostrados, utilizando-se análise estatística descritiva por meio de distribuição absoluta e relativa.

Para análise estatística dos resultados ante as categorias (animais jovens e em reprodução), foi realizado o Teste Exato de Fisher, sendo ainda calculado Odds Ratio com intervalo de confiança de 95% para verificação da idade como possível fator de risco ou proteção. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa estatístico Graphpad Prism, versão 5.04, adotando-se um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Das 450 amostras de ovinos analisadas pelo teste de IDGA, 31,6% (142/450) foram positivas, com a formação da linha de precipitação de identidade. Todas as propriedades avaliadas apresentaram animais positivos com frequência entre 11,8% e 82,6% (Tabela 1).

Tabela 1. Frequência de ovinos positivos e negativos (valores relativos e absolutos) distribuídos por propriedade na pesquisa de anticorpos anti-Brucella ovis pelos testes de Imunodifusão em Gel de Ágar e Fixação de Complemento, no município de Colinas, Tocantins, 2011

Propriedades	IDGA		FC	
	Positivos	Negativos	Positivos	Negativos
1	12/46(26, 08%)	34/46(73, 92%)	1/46(2, 17%)	45/46(97, 83%)
2	19/23(82, 60%)	4/23(17, 40%)	0/23(0, 00%)	23/23(100, 00%)
3	2/8(25, 00%)	6/8(75, 00%)	0/8(0, 00%)	8/8(100, 00%)
4	7/22(31, 81%)	15/22(68, 19%)	0/22(0, 00%)	22/22(100, 00%)
5	8/27(29, 62%)	19/27(70, 38%)	1/27(3, 70%)	26/27(96, 30%)
6	2/17(11, 76%)	15/17(88, 24%)	0/17(0, 0%)	17/17(10, 00%)
7	3/20(15, 00%)	17/20(85, 00%)	0/20(0, 00%)	20/20 (100,00%)
8	10/21(47, 61%)	11/21(52, 39%)	0/21(0, 00%)	21/21(100, 00%)
9	15/42(35, 71%)	27/42(64, 29%)	0/42(0, 00%)	42/42(10, 00%)
10	9/24(37, 50%)	15/24(62, 50%)	0/24(0, 00%)	24/24(100, 00%)
11	5/28(17, 85%)	23/28(82, 15%)	0/28(0, 0%)	28/28(100, 00%)
12	26/74(35, 13%)	48/74(64, 87%)	2/74(2, 70%)	72/74(97, 30%)
13	23/91(25, 27%)	68/91(74, 73%)	0/91(0, 007%)	91/91(100, 00%)
14	1/7(14, 28%)	6/7(85, 72%)	0/7(0, 00%)	7/7(100,00)
Total	142/450(31, 55%)	308/450(68, 45%)	4/142(2, 81%)	138/142(97, 19%)

Das 142 amostras positivas na IDGA, apenas 2,8% (4/142) reagiram ao teste de Fixação de Complemento, com prevalência real de 0,9%, confirmando a ocorrência do agente em algumas das propriedades do município de Colinas (Tabela 2).

Tabela 2. Frequência de ovinos reagentes (valores relativos e absolutos) na pesquisa de anticorpos anti- Brucella ovis pelo teste de IDGA e submetidos à FC, no município de Colinas, Tocantins, 2011.

Resultados	IDGA	(%)	FC	(%)
Positivos	142	31,55	4	0,88
Negativos	308	68,45	446	99,12
Total	450	100	450	100

Na pesquisa de anticorpos anti-*B. abortus*, 4,4% (20/450) reagiram ao AAT e a frequência de animais positivos por propriedade variou de nenhum animal reagente a 17,6% (Tabela 3).

Tabela 3. Frequência de ovinos positivos e negativos (valores relativos e absolutos) distribuídos por propriedade na pesquisa de anticorpos anti-*Brucella abortus* pelos testes de Soroaglutinação Antígeno Acidificado Tamponado e Soroaglutinação Lenta em Tubos/2-Mercaptoetanol, no município de Colinas, Tocantins, 2011.

Propriedades	AAT		SAT/2-ME	
	Positivos	Negativos	Positivos	Negativos
1	0/46(0, 00%)	46/46(100, 00%)	0/46(0, 00%)	46/46(100, 00%)
2	3/23(13, 04%)	20/23(86, 96%)	1/23(4, 34%)	22/23(95, 66)
3	0/8(0, 00%)	8/8(100, 00%)	0/8(0, 00%)	8/8(100, 00%)
4	0/22(0, 00%)	22/22(100, 00%)	0/22(0, 00%)	22/22(100, 00%)
5	1/27(3, 70%)	26/27(96, 30%)	1/27 (3, 70%)	26/27(96, 30%)
6	3/17(17, 64%)	14/17(82, 36%)	2/17(11, 76%)	15/17(88, 24%)
7	0/20(0, 00%)	20/20 (100, 00%)	0/20(0, 00%)	20/20 (100, 00%)
8	3/21(14, 28%)	18/21(85, 72%)	2/21(9, 52%)	19/21(90, 48%)
9	2/42(4, 76%)	40/42(95, 24%)	2/42(4, 76%)	40/42(95, 24%)
10	0/24(0, 00%)	24/24(100, 00%)	0/24(0, 00%)	24/24(100, 00%)
11	1/28(3, 57%)	27/28(96, 43%)	1/28(3, 57%)	27/28(96, 43%)
12	4/74(5, 40%)	70/74(94, 60%)	3/74(4, 05%)	71/74(95, 95%)
13	3/91(3, 29%)	88/91(96, 71%)	2/91(2, 19%)	89/91(97, 81%)
14	0/7(0, 00%)	7/7(100, 00%)	0/7(0, 00%)	7/7(100, 00%)
Total	20/450(4, 44%)	430/450(95, 56%)	14/450(3, 11%)	436/450(96, 89%)

Dentre as amostras de soro avaliadas no SAT/2-ME, 3,1% (14/450) revelaram-se positivas e 0,7% (3/450) inconclusivas, estas não foram submetidas novamente ao SAT/2-ME para verificar se a reação se mantinha inconclusiva ou se resultaria em reação positiva (Tabela 4).

Tabela 4. Frequência de ovinos reagentes (valores relativos e absolutos) na pesquisa de anticorpos anti-*Brucella abortus* pelos testes de Soroaglutinação Antígeno Acidificado Tamponado e Soroaglutinação Lenta em Tubos/2-Mercaptoetanol, no município de Colinas, Tocantins, 2011

Resultados	AAT	(%)	SAT/2- ME	(%)
Positivos	20	4,44	14	3,11
Negativos	430	95,56	433	92,23
Inconclusivos	0	0	3	0,66
Total	450	100	450	100

A análise dos dados no teste do SAT/2-ME, segundo a faixa etária, revelou 4,2% (14/330) de positividade para *B. abortus* entre os animais em reprodução

e nenhum animal infectado (0/120) entre os jovens, havendo uma diferença significativa entre as faixas etárias: ($P=0,0261$) e ($OR= 11,0400 - IC_{95\%} = 0,6531-186,7000$).

O resultado do inquérito epidemiológico das 14 propriedades avaliadas demonstrou que 92,9% possuíam criação em sistema extensivo, com alimentação baseada em braquiarião e sal mineral, e 7,1% em sistema intensivo. As fontes de água para os animais eram córregos (57,1%) e açudes (42,9%). Todas as fazendas tinham como método de reprodução a monta natural e, em 50%, havia a ocorrência de abortamentos, os quais só eram recolhidos em apenas 14,3% das propriedades. Em 42,9% das propriedades, foram citadas outras doenças como pododermatites, verminoses, linfadenite e ceratoconjuntivite; em 7,1%, os proprietários não souberam informar. A limpeza das instalações era feita diariamente em 7,1% e semanalmente em 14,3%, enquanto 78,6% nunca limpavam as instalações. A assistência técnica periódica foi relatada em 7,1% das fazendas. Em todas as propriedades, havia o relato de nascimento de animais fracos ou natimortos. Todos os proprietários relataram não ter conhecimento sobre a ocorrência da brucelose em ovinos. Foi reportada a presença de outros animais como bovinos, cães, gatos, galinhas e animais silvestres nas proximidades ou no pasto onde os ovinos se alimentavam.

DISCUSSÃO

O resultado encontrado para *B. ovis* (31,6%) em ovinos oriundos do município de Colinas-TO demonstra uma elevada prevalência de animais soropositivos para o agente. Esse resultado é compatível com o trabalho de Silva et al. (2003) no Rio Grande do Norte e superior aos valores observados por Azevedo et al. (2004) no Rio Grande do Norte e Rizzo et al. (2009) em São Paulo, o que significa que a doença apresenta distribuições distintas entre os diferentes estados do país e entre os municípios de um mesmo estado. Uma análise dos resultados obtidos nos diferentes estudos soroepidemiológicos realizados em ovinos no Brasil é apresentada na Tabela 5.

Todavia, a comparação entre os vários estudos realizados no país é complexa em virtude da população, dos tipos de amostragem e das variações entre os testes sorológicos adotados, os quais podem influenciar os resultados conforme sugeriram Azevedo et al. (2004). Acredita-se que, no presente trabalho, a elevada positividade se deva às reações cruzadas com outras bactérias (por exemplo, *Actinobacillus seminis*, *Haemophilus somnus*, *Corynebacterium pyogenes*, *Pasteurella* spp., *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp.) que são capazes de causar lesões nos testículos e epidídimo de ovinos semelhantes às originadas por *B. ovis*, conforme já foi sugerido por diversos autores (Estein, 1999; Brasil, 2006; Pinheiro Junior et al., 2009; Carvalho Junior et al., 2010). Tais reações podem resultar em um diagnóstico errôneo de epididimite por *B. ovis* em carneiros,

portanto seria necessária a realização de teste de IDGA associado com FC para melhorar a especificidade dos testes (Clementino et al., 2007).

Tabela 5. Levantamento soroepidemiológico para *Brucella ovis* em ovinos no Brasil, segundo a técnica de IDGA

Estudo	Prevalência (%)	Técnica	Local
Nozaki et al. (2004)	0,00	IDGA	Região Centro-Oeste de São Paulo
Souza et al. (2011)	0,72	IDGA	Microrregião de Juazeiro/BA
Rizzo et al. (2009)	1,96	IDGA	São Paulo
Pinheiro Junior et al.(2009)	3,10	IDGA	Regiões Leste, Agreste e Sertão de Alagoas
Silva et al. (2009)	3,27	IDGA	Recôncavo Baiano
Azevedo et al. (2004)	5,00	IDGA	Ouro Branco/RN
Azevedo et al. (2004)	9,10	IDGA	Parellhas/RN
Azevedo et al. (2004)	10,70	IDGA	Jardim do Seridó/RN
Juliano et al. (2011)	12,70	IDGA	Corumbá/MS
Azevedo et al.(2004)	15,60	IDGA	Caicó-RN
Presente estudo	31,55	IDGA	Colinas-TO
Silva et al. (2003)	34,00	IDGA	Rio Grande do Norte

Houve diminuição nos resultados positivos confirmados pela FC (2,8%), o que, provavelmente, decorreu da diminuição dos resultados falso-positivos, uma vez que a FC é uma prova mais específica (Juliano et al., 2011), enquanto a IDGA é mais sensível e pode resultar em reações inespecíficas por causa das reações cruzadas com outras bactérias (Azevedo et al., 2004). Nozaki et al. (2004) também sugerem a ocorrência de reações inespecíficas pela presença dos lipopolissacarídeos na parede celular de outras bactérias gram-negativas que geram reações cruzadas com *B. ovis*.

As condições sanitárias e o clima são fatores que também podem contribuir para as diferenças encontradas e para a distribuição da doença no país (Ficapal et al., 1998; Pinheiro Junior et al., 2009). Assim, a elevada prevalência constatada na IDGA pode ser justificada por meio dos achados do levantamento formal realizado no momento da coleta das amostras, no qual foram observadas condições higiênicas inadequadas nos apriscos, além da presença de outros animais como bovinos, animais silvestres e cães.

Segundo Estein (1999), a doença é natural apenas em ovinos, entretanto Clementino et al. (2007) relataram que outros animais podem participar como vetores mecânicos ao ingerir restos abortados, contribuindo para a disseminação do agente. De fato, nas propriedades avaliadas também foram evidenciados fatores como a presença de restos de abortos que permaneciam no pasto, a falta de assistência técnica e, principalmente, o desconhecimento dos produtores sobre a existência do agente como causador de doença em ovinos. Esses fatores, associados ao clima úmido da região, especialmente na época das chuvas, dificultam a limpeza dos apriscos, currais e dos pastos e favorecem a sobrevivência do agente, o que

contribui para a elevada taxa de animais positivos no IDGA e sugere a existência de outros micro-organismos nos ovinos.

Para a pesquisa de anticorpos anti-*B. abortus*, o percentual de ovinos positivos no AAT foi superior aos resultados encontrados por Nozaki et al. (2004) em São Paulo, Pinheiro Junior et al. (2008) em Pernambuco e Salaberry et al. (2011) em Minas Gerais, porém inferior aos dados obtidos por Ocholi et al. (2005) na Nigéria. No entanto, quando se faz o cotejamento do resultado deste trabalho com pesquisas realizadas em bovinos, observa-se que a prevalência foi inferior aos valores encontrados por Almeida et al. (2010) em Minas Gerais e superior aos resultados observados por Viana, Moraes e Zanini (2009). Com isso, percebe-se que a positividade de ovinos no AAT para detecção de anticorpos anti-*B. abortus* chega a valores superiores ou próximos aos resultados observados em bovinos, que são os hospedeiros adaptados ao agente. Resultados de alguns estudos soroepidemiológicos realizados em ovinos e bovinos no país estão apresentados na Tabela 6. Todavia, uma comparação entre os dados obtidos é difícil por causa da população, da amostragem e de reações inespecíficas no AAT em decorrência da presença de outras bactérias gram-negativas, o que resulta em falso-positivos no diagnóstico desta enfermidade nos animais (Tenório et al., 2008).

Tabela 6. Levantamento soroepidemiológico para *Brucella abortus* em ovinos e bovinos no Brasil

Estudo	Prevalência (%)	Espécie	Técnica	Local
Nozaki et al. (2004)	0,00	Ovino	AAT	Região Centro-Oeste de São Paulo
Salaberry et al. (2011)	0,00	Ovino	AAT	Uberlândia/MG
Figueiredo et al. (2011)	0,36	Bovino	AAT	Paraíba
Pinheiro Junior et al. (2008)	2,50	Ovino	AAT	Sertão de Pernambuco
Viana; Moraes e Zanini (2009)	3,50	Bovino	AAT	Alegre/ES
Presente estudo	4,44	Ovino	AAT	Colinas/TO
Almeida et al. (2010)	9,88	Bovino	AAT	Sul de MinasGerais
Minervino et al. (2011)	10,35	Bovino	AAT	Pará

A aproximação das taxas de prevalência para *B. abortus* em bovinos e ovinos deve-se, provavelmente, ao fato de que a ovinocultura não é tratada como atividade principal nas propriedades avaliadas. Em consequência disso, ocorre a exploração extensiva com a proximidade de outros animais como os bovinos, o manejo sanitário é inadequado e a assistência técnica é apenas periódica ou inexistente, o que contribui para a ocorrência da doença (Clementino et al., 2007). Tais fatores de risco foram observados nos achados do levantamento formal, realizado durante a coleta das amostras, destacando-se a presença de bovinos e também de cães que, ao ingerirem restos de tecidos abortados, infectam-se e contribuem para a disseminação do agente.

Ocholi et al. (2005) relatam que a ocorrência da *B. abortus* em ovinos é rara. Contudo, a criação consorciada de ovinos e bovinos em sistema extensivo pode resultar na infecção dos ovinos, pois os bovinos, quando infectados por *B. abortus*, eliminam o agente nas secreções do trato genital. Desse modo, propiciam a contaminação do ambiente e servem como fonte de infecção dos ovinos (Paulin, 2003).

O PNCEBT tem contribuído para a diminuição das taxas de prevalência entre bovinos e bubalinos graças à vacinação compulsória. No Tocantins, tal medida tem favorecido o controle da doença, mas outras medidas como o diagnóstico de animais positivos seguido de abate sanitário, o controle do trânsito de animais, a capacitação técnica de veterinários e a educação sanitária são fundamentais para tornar as taxas de prevalência cada vez menores ou até mesmo para erradicar a doença (Castro et al., 2008). Desta forma, são reduzidas as fontes de infecção para os ovinos.

Em virtude da escassez de estudos sobre a brucelose ovina causada por *B. abortus*, torna-se difícil a discussão comparativa com outros autores sobre a significância estatística da faixa etária obtida nos testes específicos (FC e SAT/2-ME). Ao se buscar na literatura fatores de risco para brucelose bovina causada pelo referido agente, percebe-se que não há citação da faixa etária como fator de risco para a infecção por *B. abortus*. Diante disso, descarta-se a possibilidade de transmissão por via sexual, que é o fator que poderia resultar em uma maior positividade em animais sexualmente ativos. Assim, o que é relatado é a existência de propriedades com baixa tecnificação ou de subsistência com exploração extensiva, rebanhos com alta densidade (Ogata et al., 2009), contato com ruminantes silvestres (Gonçalves et al., 2009), presença de fetos e anexos placentários de animais infectados nos pastos (Monteiro et al., 2006; Ogata et al., 2009; Gonçalves et al., 2009), aquisição de animais sem a exigência de testes sorológicos ou o desconhecimento da condição sanitária do rebanho de origem (Dias et al., 2009). Esses fatores, associados com a positividade dos rebanhos bovinos, favorecem a disseminação da doença e, possivelmente, sua ocorrência nos ovinos.

Na pesquisa de anticorpos anti-*B. abortus*, o resultado encontrado de 70% (14/20) de positividade no SAT/2-ME foi superior àquele demonstrado por Monteiro et al. (2006). Estes autores, ao utilizarem os mesmos testes no diagnóstico de 2.376 amostras de soro bovino, obtiveram 274 resultados positivos no AAT, dentre os quais 157 (57,3%) foram positivos no SAT/2-ME, 18 inconclusivos e 99 negativos. Os resultados sugerem que tais valores podem ser influenciados pela sensibilidade e especificidade dos testes, tipo e tamanho do rebanho, local de origem dos animais, manejo sanitário ou outros fatores de risco.

Quando analisaram 1.396 amostras de soro bovino, Almeida et al. (2010) obtiveram 138 amostras positivas no AAT, dentre as quais 65 (47,1%) foram confirmadas no SAT/2-ME, 68 foram inconclusivas e 15 negativas. Pinto et al. (2005), analisando 90 amostras de soro de bubalinos com a utilização do AAT e comparando com os resultados do SAT/2-ME, obtiveram 41 amostras positivas

no AAT e SAT/2-ME; dos 49 negativos no AAT, 4 foram positivos no SAT/2-ME. Os pesquisadores observaram a ocorrência de falso-negativos no AAT, o que não é comum, visto que os testes de triagem objetivam uma alta sensibilidade. Tais resultados demonstram alta concordância entre AAT e SAT/2-ME, embora seja possível verificar a ocorrência de falso-positivos nos testes de triagem em virtude da maior sensibilidade. Essa redução nos resultados do SAT/2-ME também pode ser justificada pelas reações inespecíficas que ocorrem no AAT, por causa da atividade IgM ou de infecções recentes nas quais não há detecção da IgG (Aguiar et al. 2005). Contudo, o AAT é considerado o teste padrão de triagem para o diagnóstico da brucelose bovina por sua elevada sensibilidade (Acypreste et al., 2002). Segundo Molnár et al. (2002), para o diagnóstico de brucelose em rebanhos, os testes sorológicos são mais convenientes, cabendo ressaltar que a escolha adequada das provas se faz mediante os objetivos esperados.

Quanto à análise dos dados do teste de SAT/2-ME, notou-se uma associação significativa entre a positividade da doença e a faixa etária, sendo maior a chance de um animal em reprodução ser positivo do que um animal jovem. Outros trabalhos que realizaram diagnóstico de brucelose bovina (Monteiro et al., 2006; Ogata et al., 2009; Silva et al., 2009 e Dias et al. 2009) também não relatam a faixa etária como fator de risco ou proteção, possivelmente por se tratar de doença cuja transmissão se dá especialmente por via digestiva. Os bovinos constituem importante fonte de infecção para os ovinos, contribuindo para a disseminação da doença entre os rebanhos, principalmente, em virtude dos abortos que contêm grandes quantidades de brucelas que contaminam o ambiente (Paulin, 2003).

Os órgãos competentes de defesa sanitária e o PNCEBT têm concorrido para a diminuição da prevalência de brucelose entre os rebanhos bovinos no Tocantins e no Brasil mediante a vacinação compulsória e demais ações de vigilância e controle da doença. Apesar disso, o resultado do trabalho demonstra que tais medidas sanitárias de controle da enfermidade ainda não são estendidas aos outros rebanhos, os quais podem funcionar como importantes fontes de infecção para bovinos.

Cabe ressaltar, portanto, a necessidade de ações de controle da brucelose entre os rebanhos ovinos do município de Colinas, no Tocantins, tais como: diagnóstico de animais positivos seguido de abate sanitário, controle do trânsito de animais, capacitação técnica de veterinários, educação sanitária e reconhecimento da ovinocultura como atividade econômica que precisa de cuidados de higienização como qualquer outra atividade pecuarista. Espera-se que essas ações contribuam para a redução das taxas de prevalência e disseminação da doença entre os rebanhos.

O diagnóstico sorológico é a principal ferramenta utilizada no combate à brucelose, pois permite o monitoramento de propriedades e regiões e a fiscalização de áreas nas quais a doença está erradicada ou não existe. Os testes devem ser utilizados conforme determina o MAPA para o diagnóstico de brucelose tanto em bovinos quanto em ovinos (Paulin, 2003).

CONCLUSÃO

A brucelose ovina é realidade no município de Colinas, tanto a causada por *B. ovis* quanto por *B. abortus*, sendo os animais em reprodução os mais predispostos à infecção. Portanto, são necessários estudos adicionais para o diagnóstico de outras causas de enfermidades dos ovinos e a implantação de medidas de controle, como abate sanitário dos animais positivos, higienização adequada dos apriscos e do pasto e descarte adequado de tecidos abortados. Além disso, deve-se evitar o contato de ovinos com outros animais e oferecer educação sanitária aos proprietários para que eles saibam como prevenir ou eliminar a doença de suas propriedades.

REFERÊNCIAS

1. Acypreste CS, Silva FAL, Mesquita AJ, Fioravanti MCS, Dias Filho FC, Ramos LS. Diagnóstico da frequência de brucelose bovina em vacas em lactação na bacia leiteira de Goiânia pelas provas do Anel do Leite e Rosa Bengala. *C A B* 3: 59-65, 2002.
2. Aguiar DM, Cavalcante GT, Vasconcellos AS, Megid J, Salgado VR, Cruz TF, Labruna MB, Pinter A, Silva JCR, Moraes ZM, Camargo LMA, Genari MS. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella abortus* e anti-*Brucella canis* em cães rurais e urbanos do Município de Monte Negro, Rondônia, Brasil. *Cienc Rural* 35: 1216-1219, 2005.
3. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. *Techniques for the brucellosis laboratory*. Institut National de La Recherche Agronomique. Paris, 1988.
4. Almeida AC, Silva DB, Augusto PH, Mata e Silva BC, Pinho L. Incidência de brucelose animal na região Sul de Minas Gerais em rebanhos positivos ao teste do Anel do Leite: Nota Técnica. *C A B II*: 966-970, 2010.
5. Azevedo SS, Alves CJ, Alves FAL, Clementino IJ, Batista CSA, Azevedo AS. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Agrop Tec* 25: 45-50, 2004.
6. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 102 de 17 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o Plano Nacional de Vigilância e Controle da Epididimite Ovina_ *Brucella ovis*. *Diário Oficial da União*, Brasília, 17 de dezembro 2004. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/legislacao>. Acesso: 02/01/2012
7. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose_ PNCEBT. *Manual Técnico*. Brasília, 2006.
8. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº27 de 20 de outubro de 2010. Aprova o teste de polarização fluorescente (TPF) para utilização pelo PNCEBT no diagnóstico da brucelose bovina e bubalina. *Diário Oficial da União*, Brasília, 20 de dezembro 2010. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/legislacao>. Acesso: 02/01/2012
9. Carvalho Junior CA, Xavier MN, Costa LF, Silveira SS, Sant'anna FM, Borges AM, Gouveia AMG, Santos RL. Agentes infecciosos que podem promover infertilidade em machos da espécie ovina. *Rev Bras Reprod Anim* 34: 160-167, 2010.
10. Castro HÁ, Gonzalez SR, Prat MI. Brucellosis: una revisión práctica. *Acta bioquímica clínica latinoamericana* 39: 203-216, 2005.
11. Castro AAP, Dias FEF, Rodrigues AL, Cavalcante TV, Rodrigues KF, Almeida KS. A experiência do Tocantins no combate à brucelose bovina. In 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 2008, Gramado. *Resumo...* Gramado, 2008.
12. Clementino IJ, Alves CJ, Azevedo SS, Paulin LM, Medeiros KA. Inquérito soro-epidemiológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semi-árido da Paraíba. *Pesq Vet Bras* 27: 137-143, 2007.

13. Dias JA, Muller EE, Dias RA, Freitas JC, Amaku M, Ferreira F, Silva MCP, Lôbo JR, Figueiredo VCF, Gonçalves VSP, Ferreira Neto JS. Situação epidemiológica da brucelose bovina no estado do Paraná. *Arq Bras Med Vet Zootec* 61: 66-76, 2009.
14. Estein SM. Immunological aspects in the diagnosis and control of contagious epidymitis of rams by *Brucella ovis*. *Arch Med Vet* 31: 1-18, 1999.
15. Ferreira AC, Cardoso R, Dias TI, Mariano I, Belo A, Preto IR, Manteigas A, Fonseca AP, Sá MIC. Evaluation of a modified Rose Bengal test and an indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the diagnosis of *Brucella mellitensis* infection in sheep. *Vet Res* 34: 297-305, 2003.
16. Ficapal A, Jordana J, Blasco JM, Mariyon I. Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. *Small Rumin Res* 29: 13-19, 1998.
17. Figueiredo SM, Rocha VCM, Higino SSS, Batista CSA, Alves CJ, Clementino IJ, Azevedo SS. Brucelose bovina no estado da Paraíba: estudo retrospectivo. *Arq Inst Biol* 78: 9-16, 2011.
18. Gonçalves VSP, Delphino MKVC, Dias RA, Ferreira F, Amaku M, Ferreira Neto JS, Porto TB, Alves CM, Figueiredo VCF, Lôbo JR. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Minas Gerais. *Arq Bras Med Vet Zootec* 61: 35-45, 2009.
19. Gul ST, Khan A. Epidemiology and epizootology of brucellosis: a review. *Pakistan Vet J* 27: 145-151, 2007.
20. Icsp, *International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee on the Taxonomia of Brucella*. [atualizado em julho de 2010]. Disponível em: www.the-icsp.org/subcoms/Brucella.htm. Acesso em: 02/01/2012.
21. Jardim GC, Pires PP, Mathias LA, Ribeiro OC, Kuchembuck MRG. Diagnóstico sorológico da brucelose bovina em animais adultos vacinados com dose reduzida da cepa 19 de *Brucella abortus*. *Pesqui Vet Bras* 26: 177-182, 2006.
22. Juliano RS, Silva MSP, Pellegrin AO, Lima MFNT, Silva RAMS. Prevalência de brucelose ovina no município de Corumbá- MS. *Veterinária e Zootecnia* 18: 827-830, 2011.
23. Lira NSC, Megid J. Patogenia da Brucelose ovina. *Veterinária e Zootecnia* 16: 280-289, 2009.
24. Megid J, Mathias LA, Robles CA. Clinical manifestations of brucellosis in domestic animals and humans. *The Open Veterinary Science Journal* 4: 119-126, 2010.
25. Minervino AHH, Calhau AS, Alves Filho A, Barbosa RS, Neves KAL, Barros IO, Barreto RA, Ortolan EL. Estudo retrospectivo da ocorrência de bovinos soro reagentes à brucelose no Estado do Pará. *Acta Veterinária Basilica* 5: 47-53, 2011.
26. Molnár L, Molnár E, Lima ESC, Dias HLT. Avaliação de seis testes sorológicos no diagnóstico da brucelose bubalina. *Pesq Vet Bras* 22: 41-44, 2002.
27. Monteiro LARC, Pellegrin AO, Ishikawa MM, Osório ALAR. Investigação epidemiológica da brucelose bovina em um estrato do Estado de Mato Grosso do Sul. *Pesq Vet Bras* 26: 217-222, 2006.
28. Nozaki CN, Megid J, Lima KC, Silva Junior FF, Veloso CS. Comparação das técnicas de Imunodifusão em Gel de Agar e Elisa no diagnóstico de brucelose ovina em cabanhas da região Centro- Oeste do Estado de São Paulo. *Arqs Inst Biológico* 71: 1-5, 2004.
29. Oholi RA, Kwaga JKP, Ajogi I, Bali JOO. Abortion due to *Brucella abortus* in sheep in Nigeria. *Rev sci tech Off Int Epiz* 24: 973-979, 2005.
30. Ogata RA, Gonçalves VSP, Figueiredo VCF, Lôbo JR, Rodrigues AL, Amaku M, Ferreira F, Ferreira Neto JS, Dias RA. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Tocantins. *Arq Bras Med Vet Zootec* 61: 126-134, 2009.
31. Paulin LM. Brucelose. *Arq Inst Biol* 70: 239-249, 2003.
32. Pessegueiro P, Barata C, Correia J. Brucelose: uma revisão sistematizada. *Medicina Interna* 10: 91-100, 2003.
33. Pinto MRA, Faglier JJ, Mathias LA, Megid J, Salgado VR. Avaliação da prova do Antígeno Acidificado Tamponado, em comparação com as provas de Fixação de Complemento e 2-Mercaptoetanol, para o diagnóstico sorológico da brucelose em um rebanho bubalino (*Bubalus bubalis*) infectado por *Brucella abortus*. *Ars Veterinaria* 21: 47-154, 2005.

34. Pinheiro Junior JW, Souza MMA, Guerra NR, Santana LA, Mota R. Frequência de Aglutininas anti-*Brucella ovis* em caprinos e ovinos do Sertão do Estado de Pernambuco. *Ci Anim Bras* 9: 1096-1101, 2008.
35. Pinheiro Junior JW, Fonseca Oliveira AA, Mota RA, Agottani JV, Jesus EM, ASSIS ST, Oliveira CZ. Ocorrência de ovinos sororeatores para *Brucella ovis* no Estado de Alagoas, Brasil. *Veterinária e Zootecnia* 16: 500-508, 2009.
36. Poester FP, , Gonçalves VSP, Lage AP. Brucellosis in Brazil. *Veterinary Microbiology* 90: 55-62, 2002.
37. Rizzo H, Gregory L, Pinheiro ES, Carvalho AF, Santana RL, Silva LMP. Incidência de *Brucella ovis* em ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos no estado de São Paulo, Brasil. *C A B suppl*: 591-596, 2009.
38. Robles CA. Epididimitis contagiosa de los cameros por *Brucella ovis*. *Rev Med Veter* 79: 1-13, 1998.
39. Salaberry SRS, Paulin LM, Santana RL, Castro JR, Lima-Ribeiro AMC. Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella abortus* e anti-*Brucella ovis* em ovinos no município de Uberlândia, MG. *Arq Bras Med Vet Zootec* 63: 1022-1024, 2011.
40. Silva JBA, Feijó FMC, Teixeira MFS, Silva JS. Prevalência de brucelose ovina causada por *Brucella ovis* em rebanhos do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Ciência Animal* 3: 51-54, 2003.
41. Silva VGSO, Dias RA, Ferreira F, Amaku M, Costa ELS, Lôbo J R. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Sergipe. *Arq Bras Med Vet Zootec* 61: 109-117, 2009.
42. Souza TS, Costa JN, Martines PM, Lima CCV, Araújo BR, Costa Neto AO, Anuniação AVM, Almeida MGAR, Pinheiro RR. Inquérito soro-epidemiológico de *Brucella ovis* em rebanhos ovinos do semiárido baiano. *Arq Inst Biológico* 79: 277-281, 2012.
43. Tenório TGS, Melo LEH, Mota RA, Fernandes CHC, Sá LM, Souto RJC, Pinheiro Junior JW. Pesquisa de fatores de risco para a brucelose humana associados a presença de brucelose bovina no município de Correntes, estado do Pernambuco, Brasil. *Arq Inst Biológico* 75: 415-421, 2008.
44. Viana KF, Moraes GC, Zanini MS. Frequência de anticorpos anti-*Brucella abortus* em rebanhos bovinos de aptidão leiteira no município de Alegre, Estado do Espírito Santo. *Acta Veterinária Brasílica* 3: 13-15, 2009.
45. Xavier MN, Costa EA, Paixão TA, Santos RL. The genus *Brucella* and clinical manifestations of brucellosis. *Cienc Rural* 39: 2252-2260, 2009.