

## **INCIDÊNCIA DE *BRUCELLA OVIS* EM OVINOS COM HISTÓRICO DE DISTÚRBIOS REPRODUTIVOS NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL**

Huber Rizzo<sup>1</sup>, Lilian Gregory<sup>2</sup>, Eliana Scarcelli Pinheiro<sup>3</sup>, Aline Feola de Carvalho<sup>4</sup>, Rosana Lisboa Santana<sup>4</sup>, Lílían Márcia Paulin Silva<sup>3</sup>

1. Doutorando do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – E-mail: hubervet@usp.br (autor correspondente)

2. Professora Doutora da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

3. **Laboratório** de Doenças Bacterianas da Reprodução, Instituto Biológico de São Paulo

4. Mestranda do Programa de Pós-graduação do Instituto Biológico de São Paulo.

**PALAVRAS- CHAVE:** Aborto, *Actinobacillus seminis*, brucelose, orquite.

### **ABSTRACT**

#### **INCIDENCE OF *BRUCELLA OVIS* IN SHEEP WITH A HISTORY OF REPRODUCTIVE DISORDERS IN SÃO PAULO, BRAZIL**

To investigate the incidence of *Brucella ovis* in sheep, samples were collected from 22 males and 182 females raised in 26 farms located in 19 different cities in São Paulo. They all had a history of some kind of reproductive problem, such as abortion, impairment of fertility, neonatal deaths, delivery of weak neonates, distocic delivery, vaginal discharge, orchitis, epididymitis, testicular degeneration, and lack of sexual desire. The samples analysed included: 204 blood samples, 15 semen samples, 16 aborted fetuses, 4 placenta samples, and 12 vaginal mucous samples. The percentage of serologically positive females for *Brucella ovis* was 1,96%. It was not possible to isolate *Brucella ovis* from samples submitted to the microbiological examination, although *Actinobacillus seminis* was isolated from one of the semen samples, which is considered a differential diagnosis for ovine brucellosis.

**KEYWORDS:** Abortion, *Actinobacillus seminis*, brucellosis, orchitis.

### **INTRODUÇÃO**

A brucelose em ovinos é uma doença de distribuição mundial. A primeira descrição da infecção foi feita por BUDDLE & BOYES em 1953, em 1956, BUDDLE isolou estirpes de *Brucella sp.* na Nova Zelândia e Austrália. No Brasil o primeiro diagnóstico clínico de brucelose por *Brucella ovis* foi firmado por RAMOS et al. (1966) e confirmado por BLOBEL

et al. (1972). Posteriormente, NOZAKI et al. (2004), examinaram 1.033 ovinos do Estado de São Paulo e encontraram 12% de positividade para *Brucella ovis*. AZEVEDO et al. (2004), no Rio Grande do Norte, observaram 11,3% e CLEMENTINO et al. (2007) 5,57% de ovinos sororeagentes na Paraíba.

O sinal clínico inicial da infecção de ovinos por *Brucella ovis* é febre, acompanhada de desgaste físico, dispnéia e inflamação escrotal e testicular (ROBLES, 1998). A infecção geralmente é disseminada e pode causar infertilidade em machos, abortamento em fêmeas e mortalidade neonatal em cordeiros, os principais órgãos comprometidos são: epidídimo, túnica vaginal, testículos e placenta (BUDDLE, 1956). Os animais naturalmente infectados apresentam epididimite (CAMERON & LAUERMAN Jr., 1976; BURGESS et al., 1982) e podem excretar o microorganismo no sêmen ou apenas apresentam resposta sorológica (BURGESS et al., 1982).

Em casos agudos os testículos estão aumentados de tamanho, há edema inflamatório, presença de exsudado fibrinoso na região da túnica vaginal, hiperemia testicular e edema do epidídimo (EPSTEIN et al., 1964, ROBLES, 1998). Na fase crônica são observadas regiões no testículo hipertrofiadas e endurecidas à palpação, deformações na cauda do epidídimo, bolsa escrotal espessa e com fibrosamento que restringe a mobilidade do testículo, há inclusive aderências fibrosas obstruindo a cavidade que separa as túnicas (ROBLES, 1998; RIDLER, 2002).

O objetivo desse trabalho é observar a incidência de *Brucella ovis* em ovinos que apresentaram distúrbio em sua vida reprodutiva.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Animais**

Foram colhidas amostras de 22 machos e 182 fêmeas ovinas pertencentes a 26 propriedades de 19 municípios do estado de São Paulo, todos os animais apresentavam histórico de distúrbios reprodutivos como: aborto, infertilidade caracterizada por repetição de cio, morte neonatal, partição de cordeiro fraco, parto distócico, presença de secreção uterina, orquite, epididimite, degeneração testicular e baixo libido.

### **Avaliação clínica dos animais**

Os animais foram examinados individualmente por meio do exame clínico geral e específico do aparelho genital de acordo com critérios recomendados por ROSENBERGER (1993) e as observações foram registradas em fichas clínicas.

## **Amostras**

Foram colhidas 204 amostras de sangue para obtenção de soro e realização da técnica diagnóstica de imunodifusão em gel ágar, utilizando antígenos produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR).

Para realização do isolamento bacteriano de *Brucella ovis* foram utilizados 15 amostras de sêmen, colhidas com vagina artificial e os animais que não aceitassem esse método de colheita o procedimento foi efetuado com o uso da técnica de eletroejaculação, 16 fetos resultado de abortamento, 4 amostras de secundinas e 12 amostras de secreção uterina, todas as amostras foram mantidas sob refrigeração e processada até 24 horas após a colheita.

## **Cultivo microbiológico de *Brucella ovis***

As amostras foram semeadas no meio de cultura (100 µL), ágar triptose (Difco ou Oxoid) acrescido de 5% de soro fetal bovino e da seguinte mistura de antibióticos: polimixina B (Sigma) (1800 UI/L), ciclohexamida (Sigma) (30 mg/L) e bacitracina (Sigma) (7500 UI/L) (BROWN; et al., 1971). A Incubação foi executada em microaerofilia a 37°C durante 10 dias. Após o período de incubação, foi realizada a identificação das colônias isoladas de acordo com ALTON et al. (1976).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A incidência de ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos sororeativos a *Brucella ovis* foi de 1,96% (4/204), observou-se que os quatro ovinos positivos pela prova de IDGA para pesquisa de anticorpos anti- *Brucella ovis* eram fêmeas. AZEVEDO et al. (2004), ao analisarem 115 soros de ovinos do Rio Grande do Norte, não observaram significância estatística ( $P=0,14$ ) entre a positividade e o sexo, indicando assim que machos e fêmeas estão igualmente expostos ao risco de infecção, no entanto TAMAYO et al. (1989) descreve que os machos são mais susceptíveis que as fêmeas.

Dentre os animais positivos, três possuem histórico de abortos a no máximo seis meses do momento da coleta e um com queixa de repetição de cio, sinais que também foram observados por outros autores (LIBAL & KIRKBRIDE, 1983; HOMSE et al., 1995; GRILLO et al., 1999). Os animais pertencem a três rebanhos diferentes e no momento da coleta não apresentavam sinais característicos da enfermidade.

As fêmeas podem agir como disseminadoras da enfermidade no rebanho acometendo principalmente os machos no momento do coito (PLANT et al., 1986). Eliminam o agente na secreção vaginal, secundinas e abortamentos (LIBAL & KIRKBRIDE, 1983; GRILLO et al.,

1999), leite (BAIGUN et al., 1999) ou ainda podem parir cordeiros débeis ou prematuros que podem desenvolver a enfermidade após a puberdade (ESTEIN, 1999).

Não foi possível o isolamento do agente em nenhuma das amostras submetida ao exame microbiológico por isso não podemos afirmar que os abortos ocorreram devido a Brucelose, no entanto em uma das amostras de sêmen de um reprodutor que apresentava quadro clínico de orquite e azoospermia, ocorreu o crescimento de colônias de *Actinobacillus seminis* que é o diagnóstico diferencial no caso de casos de orquite e epididimite em ovinos.

SCHAFER et al. (1997) em Santa Catarina, observaram que 18,84% dos animais que apresentavam alterações nos órgãos genitais, nem um reagiram positivamente ao teste de IDGA, isso porque outros patógenos podem ser responsáveis por lesões epididimárias e/ou testiculares em ovinos, como por exemplo, *Actinobacillus seminis*, *A.actinomycetemcomitans*, *Haemophilus somnus*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *C. pyogenes*, *Pasteurella spp.*, *Streptococcus spp.* e *Staphylococcus spp.* (WALKER et al., 1986; ROBLES et al., 1990), limitando assim o uso do exame clínico como único método diagnóstico para *Brucella ovis*.

## CONCLUSÃO

O resultado alcançado pela presente pesquisa sorológica prova a existência de *Brucella ovis* nos rebanhos comerciais de ovinos do estado de São Paulo, sendo que fêmeas sororeativas podem agir como disseminadoras da enfermidade no rebanho.

Faz-se necessário estudos mais amplos com amostragens significativas da população ovina, adoção de medidas sanitárias de controle e prevenção para evitar a propagação da doença.

## REFERÊNCIAS

ALTON, G. G.; JONES, L. M.; ANGUS, R. D.; VERGER, J. M. **Techniques for the brucellosis laboratory**. Paris: INRA, 1976. 109 p.

AZEVEDO, S. S.; ALVES, C. J.; BATISTA, C. S. A.; CLEMENTINO, I. J.; SANTOS, F. A.; ALVES, F. A. L. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 25, n. 2, p. 45-50, 2004.

BAIGÚN, R.; CONIGLIARO, A. S.; LUNA, F. Aislamiento de *Brucella ovis* y control de reaccionantes serológicos en epididimitos ovina. **Veterinaria Argentina**, Buenos Ares, v. 17, n. 162, p. 103-107, 2000.

BLOBEL, H.; FERNANDES, J. C. T.; MIES FILHO, A.; RAMOS, A. A.; TREIN, E. J. Estudos sobre a etiologia da epididimite ovina no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 7, p. 1-4, 1972.

BROWN, G. M.; RANGER, C. R.; KELLEY, D. J. Selective media for the isolation of *Brucella ovis*. **Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 61, n. 2, p. 265-280, 1971.

BUDDLE, M. B. Studies on *Brucella ovis* (n.sp.), a cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia. **Journal of Hygiene**, Cambridge, v. 54, n. 3, p. 351, 1956.

BUDDLE, M. B.; BOYES, B. W. A *Brucella* mutant causing genital disease of sheep in New Zealand. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 29, p. 145-153, 1953.

BURGESS, G. W.; McDONALD, J. W.; NORRIS, M. J. Epidemiological on ovine brucellosis in selected ram flocks. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 59, n. 2, p. 45-47, 1982.

CAMERON, R. D. A.; LAUERMAN Jr., L. H. Characteristics of semen changes during *Brucella ovis* infection in rams. **Veterinary Record**, London, v. 99, n. 12, p. 231-233, 1976.

CLEMENTINO, I. J.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S.; PAULIN, L. M.; MEDEIROS, K. A. Inquérito soro-epidemiológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 4, p. 137-143, 2007

EPSTEIN, B.; CIPRIAN, F.; ANDREATA, J. N.; BACIGALUPO, N. R. Estudios de la patologia y microbiologia espontanea y experimental en ovinos machos provocada *Brucella ovis*. **Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata**, La Plata, n. 3, p. 1-47, 1964.

ESTEIN, S. M. Aspectos inmunológicos en el diagnostico y control de la epididimitis contagiosa del carnero por *Brucella ovis*. **Archivos Medicina Veterinaria**, Valdivia, v. 31, n. 1, p. 5-17, 1999.

GRILLÓ, M. J.; MARI-N, C. M.; BARBERÁN, M.; BLASCO, J. M. Experimental *Brucella ovis* infection in pregnant ewes. **Veterinary Record**, London, v. 41, p. 111-115, 1993.

HOMSE, A. C.; CASARO, A. P.; CAMPERO, C. M. Infertilidad en ovejas por *B. ovis*. **Veterinaria Argentina**, Buenos Aires, v. 12, n. 114, p. 243-249, 1995.

LIBAL, M. C.; KIRKBRIDE, C. A. *Brucella ovis*-induced abortion in ewes. **Journal American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 183, n. 5, p. 553-554, 1983.

NOZAKI, C. N.; MEGID, K. C.; SILVA JUNIOR, F. F.; VELOSO, C. S. Comparação das técnicas de imunodifusão em gel de ágar e ELISA no diagnóstico de bucelose ovina em cabanhas da região Centro-Oeste do Estado de São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 1, p. 1-5, 2004.

PLANT, J. W.; EAMENS, G. J.; SEAMAN, J. T. Serological, bacteriological and pathological changes in rams following different routes of exposure to *Brucella ovis*. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 63, n. 12, p. 409-412, 1986.

RAMOS, A. A.; MIES FILHOS, A.; SCHENCK, J. A. P.; VASCONCELLOS, L. D.; PRADO, O. T. G.; FERNANDES, J. C. T.; BLOBEL, H. Epididimite ovina, levantamento clínico no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 1, p. 211-213, 1966.

RIDLER, A. L. An overview of *Brucella ovis* infection in New Zealand, **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 50, n. 3, p. 96-98, 2002

ROBLES, C. A. Epididimitis contagiosa de los carneros por *Brucella ovis*. **Revista de Medicina Veterinaria**, v. 79, n. 1, p. 67-71, 1998.

ROBLES, C. A.; URCULLU, J. A.; UZAL, F. A.; MERIO, R. Primer diagnóstico em Patagonia de orchideoepididimitis em carneros por bacilos pleomórficos Gram negativos. **Veterinaria Argentina**, Buenos Aires, v. 7, p. 453-455, 1990.

ROSENBERGER, G. 1983. **Enfermedades de los bovinos**. Tomo II. Hemisferio Sur, Montevideo. 577 p.

SCHAFFER, I.; VAZ, A.; RAMELLA, J.; COUTINHO, G. Prevalência de carneiros reagentes a prova de imunodifusão em gel para *Brucella ovis* no Município de Lages-SC. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 17, n. 99, p. 60-61, 1997.

TAMAYO, R.; VALENTIN, H.; SCHOEBITZ, R. Determinación de anticuerpos a *Brucella ovis* en ovinos de la X Región de Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, Valdivia, v. 21, n. 1, p. 22-28, 1989.

WALKER R. L.; LEA MASTER B. R.; STELLFLUG J. N.; BIBERSTEIN E. L. Association of age of ram with distribution of epididymal lesions and etiologic agent. **Journal American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 188, p. 393-396, 1986.