



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS, AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA AGROPECUÁRIA

GABRIELA DOS SANTOS SANTANA

**BRUCELOSE OVINA E LINFADENITE CASEOSA NO
MUNICÍPIO DE PINTADAS - BAHIA: LEVANTAMENTO
SOROEPIDEMIOLÓGICO E CARACTERIZAÇÃO DO
SISTEMA DE PRODUÇÃO**

Cruz das Almas – Bahia

2015

GABRIELA DOS SANTOS SANTANA

**BRUCELOSE OVINA E LINFADENITE CASEOSA NO
MUNICÍPIO DE PINTADAS - BAHIA: LEVANTAMENTO
SOROEPIDEMIOLÓGICO E CARACTERIZAÇÃO DO
SISTEMA DE PRODUÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do curso de mestrado profissional em Defesa Agropecuária do Centro de ciências agrárias, ambientais e biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em defesa agropecuária.

Orientador: Prof. Dr. Joselito Nunes Costa

Co-orientador: Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira

Cruz das Almas – Bahia

2015

FICHA CATALOGRÁFICA

**BRUCELOSE OVINA E LINFADENITE CASEOSA NO
MUNICÍPIO DE PINTADAS - BAHIA: LEVANTAMENTO
SOROEPIDEMIOLÓGICO E CARACTERIZAÇÃO DO
SISTEMA DE PRODUÇÃO**

GABRIELA DOS SANTOS SANTANA

Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de Mestre no Programa de Mestrado Profissional em Defesa Agropecuária.

Cruz das Almas, 31 de Agosto de 2015.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Joselito Nunes Costa – CCAAB/UFRB
Orientador

Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira – CCAAB/UFRB

Prof. Dr^a Juliana Targino Silva Almeida e Macedo – UFRB

CÓPIA DA ATA

DEDICATÓRIA

Àqueles que sempre estiveram ao meu lado, apoiando-me incondicionalmente: minha querida mãe, irmãos e tios.

Àquele que me apoiou diariamente, abdicando-se da minha presença para o meu crescimento profissional: Bruno.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser a luz que sempre ilumina meu caminho.

Aos meus pais Sonia Maria, minha inspiração e exemplo de trabalho e superação em todas as fases da minha vida! Agradeço a você meu pai, Paulo Jones (*in memorian*) por sempre acreditar em mim e me apoiar lá no início, onde tudo começou. Onde quer que esteja, sei que está olhando e torcendo por mim!

À minha linda família: Minha querida vó Olga (*in memorian*) pela presença constante em minhas orações! Meus irmãos Paulinho, Guto e Vivi, obrigada por fazerem parte da minha vida. Aos meus tios amados, Iara, Miriam, Silvia, Cristina, André e Sandoval que estiveram sempre presentes, me apoiando, com muito carinho e confiança. Aos meus primos, verdadeiros irmãos, Hélio, Bárbara, Júlia, Rafaela e Gabriel, por confiarem e compreenderem meus momentos de ausência. Ao meu pequeno e lindo sobrinho, JP, que veio para trazer alegria e paz. Amo vocês de paixão!

Às minhas cunhadas Andrea e Hanna, pela amizade e alegrias proporcionadas em nossas viagens e reuniões familiares.

À família Cardoso, em especial aos meus sogros, Celeste e Ubaldo, que me acolheram como uma filha me proporcionando sempre momentos de alegria e felicidade.

Ao meu namorado Bruno, meu grande companheiro, presente em todas as etapas deste trabalho, principalmente em dias de coleta, enfrentando chuva e sol e a todos os momentos que estive ao seu lado, com seu amor, paciência, dedicação e compreensão, me confortando a cada minuto de estresse (esse trabalho também é seu, meu amor!).

Ao Prof. Joselito Nunes Costa, por sua orientação e por ser esse exemplo de profissional, incentivador de profissionais comprometidos com a educação e extensão.

Ao Prof. Robson Bahia Cerqueira, pelo incentivo à pesquisa. Agradeço todo carinho e confiança demonstrados ao longo de minha formação, desde a graduação. Obrigada pela ajuda na execução do projeto com as orientações indispensáveis, acreditando sempre que eu seria capaz e por abrir as portas do seu laboratório para a realização dos testes de IDGA e ELISA.

Aos amigos “anjos” do NEDI-LDI, em especial a Évellin, Juliana e Vinícius, por toda ajuda e esforço para que este trabalho fosse concluído; aos alunos de iniciação científica Gabriel e Caio e ao Dr. Thiago Sampaio pela ajuda na execução deste projeto.

Aos meus queridos colegas de pós-graduação pelo companheirismo nas aulas e que sabiam sempre transformar desespero em alegria para vencermos mais esta batalha, em especial Danielle Pinheiro.

Aos técnicos da Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia do Município de Pintadas, pelo auxílio e pelo primoroso apoio concedido na execução prática deste trabalho, especialmente ao Luis Soares pelo valioso apoio técnico no mapeamento das propriedades e ao veterinário Washington, pelo seu acolhimento na agência e toda ajuda prestada desde o início.

Ao professor Antônio Costa pela valiosa ajuda na elaboração das tabelas com seus cálculos estatísticos complicadíssimos.

Aos meus grandes e verdadeiros amigos, Maicon, Carol, Geógio, Emmanuel Anna Fernanda e Rafaela; sou grata pela amizade, compreensão e ajuda desde o início desta caminhada.

À FAPESB – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia, pela concessão da bolsa de estudo, de suma importância para a realização deste trabalho.

Aos colegas e técnicos do CDP - Centro de Desenvolvimento da Pecuária, Margareth, Roberto, Eliene, Ticianna, Luiza, Lara, Viviane, Sr. Teles, Rands, Robson, Alex, dona Tonha e Toinha, pela dedicação e inestimável colaboração na elaboração deste trabalho.

Às pessoas que colaboraram na construção deste trabalho, em especial aos proprietários e seus familiares, que autorizaram as colheitas das amostras e que nos acolheram em suas casas com muito carinho e respeito. A vocês, minha eterna gratidão!

Enfim, todas as pessoas que direta ou indiretamente fizeram e fazem-se presentes em minha vida e contribuíram com essa minha caminhada, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

A ovinocultura apresenta importância crescente no cenário econômico brasileiro, principalmente devido ao alto valor agregado de alguns de seus subprodutos, mas a tecnificação da criação desses animais ainda enfrenta problemas, como a ocorrência de diversas doenças infecciosas. O produtor rural é desafiado com o fato de conciliar técnicas de manejo com a prevenção da infecção por diversos agentes. O presente estudo objetivou a avaliação da situação sorológica de ovinos quando testados para presença de anticorpos específicos para *Brucella ovis* e *Corynebacterium pseudotuberculosis*, bem como as práticas de manejo utilizadas pelos criadores e sua correlação com a infecção dos animais. Nos exames diagnósticos foi utilizada a técnica da Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) para *B. ovis* e o ELISA indireto para *C. pseudotuberculosis*, em 501 e 498 amostras respectivamente, de ovinos sem raça definida, provenientes do município de Pintadas – Bahia – Brasil. Um questionário foi aplicado aos criadores com o intuito de obter dados acerca do sistema de criação para posterior correlação com os dados sorológicos. Os resultados demonstraram uma prevalência de 0,59% de animais soropositivos para anticorpos anti-*B. ovis*, e 82,73% de soropositivos para anticorpos anti- *C. pseudotuberculosis*, respectivamente. Certas práticas de manejo apresentaram correlação significativa com a sorologia da Brucelose ovina e da Linfadenite caseosa, se mostrando de extrema importância para o controle das doenças no estado da Bahia.

Palavras-chave: Bahia, Brucelose ovina, diagnóstico, IDGA, sistema de produção, Linfadenite caseosa, ELISA indireto.

ABSTRACT

The sheep industry has increasing importance in the Brazilian economic scenario, mainly due to the high value of some of its products, but the technification of creating these animals still faces problems such as the occurrence of various infectious diseases. The farmer is challenged by the fact that reconcile management techniques to the prevention of infection by various agents. This study aimed to assess the serological status of sheep when tested for the presence of specific antibodies to *Brucella ovis* and *Corynebacterium pseudotuberculosis* and management practices used by breeders and their correlation with the infection of the animals. The diagnostic tests we used the technique of immunodiffusion Agar Gel (AGID) for *B. ovis* and indirect ELISA for *C. pseudotuberculosis*, in 501 and 498 samples respectively, sheep mongrel from the municipality of Pintadas - Bahia - Brazil . A questionnaire was administered to farmers in order to obtain data about the creation of system for later correlation with the serological data. The results showed a prevalence of 0.59% of seropositive animals for anti-B antibodies. *ovis*, and 82.73% of seropositive for anti- *C. pseudotuberculosis*, respectively. Certain management practices were significantly correlated with serology of ovine brucellosis and caseous lymphadenitis, proving to be extremely important for the control of diseases in the state of Bahia.

Key-words: Bahia, ovine brucellosis, diagnosis, AGID, production system, caseous lymphadenitis, indirect ELISA.

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1: Estudos realizados no Brasil sobre a frequência de <i>Brucella ovis</i> em rebanhos ovinos	23
TABELA 2: Número de amostras mínimas a serem testadas para <i>Brucella ovis</i> por propriedade no município de Pintadas – Bahia	52
Tabela 3: A prevalências das amostras de ovinos testadas por imunodifusão em gel de ágar para <i>Brucella ovis</i> no município de Pintadas – Bahia	55
TABELA 4: Características gerais das propriedades visitadas no município de Pintadas - Bahia	57
TABELA 5: Frequência de ovinos reagentes na IDGA à <i>Brucella ovis</i> , segundo o sexo, no Município de Pintadas - Bahia	59
TABELA 6: Características dos rebanhos pertencentes às 44 propriedades visitadas no município de Pintadas - Bahia	59
TABELA 7: Prevalência de amostras e de propriedades positivas e negativas testadas para LC pelo teste de iELISA no município de Pintadas-Bahia	67
TABELA 8: Principais enfermidades e alterações clínicas mais frequentes relatadas nas 44 propriedades no município de Pintadas - Bahia	68

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1: Epididimite ovina por <i>Brucella ovis</i> . [A] Orquite e epididimite bilateral, aumento de volume da bolsa testicular, com consistência firme e ausência de mobilidade testicular. [B] Punção testicular com presença de exsudato serosanguinolento. [C] corte longitudinal – aderência do epidídimo ao testículo, com intensa fibrose do escroto, testículo e epidídimo, espessamento da túnica albugínea (seta 1); grande cavidade cística, preenchida por material serosanguinolento e com tecido necrótico associado a um exsudato purulento (seta 2); abscessos e focos de necrose na cauda do epidídimo, parênquima testicular e tecidos adjacentes (seta 3).	27
FIGURA 2: Microscopia eletrônica de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> em lâmina após coloração de Gram.	31
FIGURA 3: Mapa demonstrativo da Região Metropolitana de Feira de Santana-Ba, com destaque o município de Pintadas, visitado nesse estudo.	51
FIGURA 4: Linha de precipitação sinalizando que o soro testado no poço foi reagente.	55
FIGURA 5: Número de amostras positivas por propriedade.	69

FIGURA 6: Número de amostras positivas por propriedade
(continuação).

70

FIGURA 7: Número de amostras negativas por propriedade.

70

LISTA DE ABREVIATURAS

BA	Bahia
<i>B. ovis</i>	<i>Brucella ovis</i>
CDP	Centro de Desenvolvimento da Pecuária
ELISA	Ensaio Imunoenzimático (<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
FC	Fixação de complemento
g	Grama
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDGA	Imunodifusão em Gel de Ágar
iELISA	Ensaio Imunoenzimático indireto
Kg	Quilograma
LC	Linfadenite caseosa
°C	Graus Celsius
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
PNVCEO	Plano Nacional de Vigilância e Controle da Epididimite Ovina
SRD	Sem raça definida
TECPAR	Instituto de Tecnologia do Paraná
µl	Microlitro
µm	Micrometro

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
2.	OBJETIVOS	20
	2.1 Objetivo Geral	20
	2.2 Objetivos Específicos	20
3.	REVISÃO DE LITERATURA	21
	3.1 Brucelose Ovina	21
	3.1.1 Histórico	21
	3.1.2 Etiologia	22
	3.1.3 Epidemiologia	22
	3.1.4 Patogenia e resposta imune	24
	3.1.5 Achados clínicos e anatomopatológicos	26
	3.1.6 Diagnóstico	27
	3.1.7 Diagnóstico diferencial	28
	3.1.8 Tratamento, controle e profilaxia	29
	3.2 Linfadenite caseosa (LC)	30
	3.2.1 Etiologia	30
	3.2.2 Epidemiologia	31
	3.2.3 Patogenia e resposta imune	33
	3.2.4 Sinais Clínicos e Anatomopatológicos	34
	3.2.5 Diagnóstico	35
	3.2.6 Tratamento, Controle e Profilaxia	37
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
5.	ARTIGO CIENTÍFICO I	47
6.	ARTIGO CIENTÍFICO II	63
7.	ANEXO	77

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui aproximadamente 17,4 milhões de ovinos, sendo que a região nordestina concentra 56,7% desse total. Neste contexto, destaca-se o estado da Bahia, que possui o segundo maior rebanho do país com 3.125.766 cabeças, distribuídas em 417 municípios (IBGE, 2011). No Nordeste, a ovinocultura aliada à caprinocultura, representam fatores importantes, uma vez que se constituem em atividades geradoras de recursos e consequentemente contribuem para o desenvolvimento regional (RIZZO et al., 2014). Além de assistência técnica deficiente os criadores de caprinos e ovinos do Nordeste enfrentam uma série de enfermidades que comprometem a produtividade do rebanho com destaque para a brucelose e a linfadenite caseosa (PINHEIRO, 2015).

A infecção por *Brucella ovis*, conhecida como epididimite dos carneiros, é uma enfermidade infecciosa crônica de caráter contagioso que acomete naturalmente de forma exclusiva, à espécie ovina, provocando diminuição da fertilidade dos carneiros, ocasionalmente abortamento nas fêmeas e aumento da mortalidade perinatal. Desta forma compromete a saúde reprodutiva, que é de vital importância para a produção e a produtividade dos rebanhos (COLETO et al., 2003, SILVA et al., 2009, MARTINS; ALMEIDA & BRITO, 2012). A epididimite dos carneiros é relatada na maior parte das principais regiões produtoras de ovinos do mundo, estando presente na Austrália, Nova Zelândia, América do Sul e América do Norte, Ásia Central, África do Sul e Europa (MAGALHÃES NETO E GIL-TURNES, 1996; MARQUES, 2006). Caracteriza-se por ser uma doença de distribuição mundial, que gera impacto econômico negativo em países com ovinocultura desenvolvida, devido aos baixos índices reprodutivos no rebanho acometido (MAGALHÃES NETO E GIL-TURNES, 1996; SANTOS et al., 2013).

A primeira ocorrência de *B. ovis* descrita no Brasil, foi no Rio Grande do Sul por Ramos et al. (1966), com elevada mortalidade entre cordeiros, natimortos, abortamentos e epididimite nos machos, concomitantemente com a introdução de animais oriundos de países onde a doença já havia sido notificada. O rebanho se contamina com *B. ovis* durante estação de monta ou através de outros carneiros que convivem no mesmo ambiente, no ato de cheirarem ou de se lamberem. Após esse contágio a bactéria tem localização nos epidídimos nos machos e em placentas nas fêmeas. Nos epidídimos causa uma reação imunológica na cauda após o extravasamento do esperma, resultando em espermatocelose e consequente

redução da fertilidade. A eliminação do micro-organismo se dá pelo ejaculado (PESSEGUEIRO; BARATA & CORREIA, 2003). Nas ovelhas em que a infecção persiste, até o abortamento, o microrganismo está presente na placenta, nos corrimentos vaginais e no leite. A mortalidade perinatal e o nascimento de cordeiros fracos são mais elevados que o normal (BLASCO, 1990). Em contraste com os carneiros, as ovelhas são relativamente mais resistentes à infecção, por isso, exercem importante função na difusão da doença, pois muitas vezes são negligenciadas sob o ponto de vista de controle da doença (MARCO et al., 1994).

A doença em animais de produção, não possui tratamento específico, sendo o diagnóstico precoce, baseado nos testes sorológicos, uma alternativa para reduzir ou até mesmo erradicar a doença entre o rebanho. O exame clínico não é suficiente para considerar o animal negativo, sendo importante para o diagnóstico definitivo a utilização de exames sorológicos. Os testes laboratoriais de maior valor são a fixação de complemento, imunodifusão em gel (IDGA) e ELISA (COLETO et al., 2003; CARVALHO JUNIOR et al., 2010). Para o diagnóstico da brucelose ovina, a técnica de IDGA foi descrita e utilizada pela primeira vez no Brasil por Ramos et al., (1966) no qual 6,5% dos soros testados foram reagentes ao teste. A prevalência da infecção por *B. ovis* é variável em diversas partes do mundo e depende, também, do método e/ou da prova diagnóstica utilizada, variando de 2,4% a 26% dos carneiros examinados nos trabalhos realizados em outros países (TAMAYO; VALENTIN & SCHUZBITZ, 1989; TORRES et al., 1997).

O Plano Nacional de Vigilância e Controle da Epididimite Ovina (PNVCEO) por *Brucella ovis* não prevê o tratamento nem a vacinação dos animais, e sim o isolamento e o sacrifício dos soros reagentes confirmados pelo teste do IDGA (BRASIL, 2004). Ficou instituído a normativa nº. 87, de 10 de dezembro de 2004 segundo o MAPA (Ministério da Agricultura, da Pecuária e Abastecimento), determina o artigo 4º, proibida a entrada em todo o território nacional de caprinos e ovinos portadores da doença direta ou indiretamente transmissíveis de parasitos, externos ou internos, cuja difusão possa ser uma ameaça aos rebanhos nacionais, de produtos de origem animal e quaisquer outros materiais que representem risco de contaminação do rebanho (LUCAS et al., 2009).

A Linfadenite caseosa é uma doença infecto-contagiosa, de ocorrência mundial, que acomete caprinos e ovinos, caracterizada pela formação de abscessos em gânglios linfáticos

superficiais, podendo também acometer órgãos e linfonodos internos. É uma enfermidade crônica e debilitante, causada pela *Corynebacterium pseudotuberculosis*, responsável por grandes perdas econômicas, devido à utilização de manejos inadequados e pela ocorrência de doenças, como a Linfadenite caseosa (ALVES, SANTIAGO & PINHEIRO, 2007).

Esta enfermidade está distribuída em grande parte do mundo, sendo diagnosticada na Austrália, Argentina, Nova Zelândia, África do Sul e regiões ocidentais dos Estados Unidos, onde existe uma grande criação de ovinos, sendo descrita também em países que possuem significativa população de caprinos e ovinos como: Grã-Bretanha, Noruega, Holanda, Brasil, Egito, Índia, Turquia, Sudão, França e Canadá (ARSENAULT et al., 2003).

Corynebacterium pseudotuberculosis causa consideráveis prejuízos econômicos devido à diminuição da produção de leite e carne, da condenação de vísceras e carcaças pela presença de abscessos, da queda na reprodução e dos altos custos em medicamentos e mão-de-obra (MEYER et al., 2002). A forma visceral da doença é a mais grave e mais preocupante, onde o diagnóstico clínico é difícil e a demora pode levar à debilitação do animal, disseminação do patógeno no ambiente e levar a morte de indivíduos (LUCAS et al., 2009). Devido aos danos que os abscessos provocam nas peles e carcaças, há uma grande necessidade de implantar medidas severas ao controle da Linfadenite caseosa, por se tratar de produtos com alto valor no mercado nacional e internacional (PINHEIRO et al., 2000; SANTIAGO et al., 2010).

Alguns fatores sanitários são indicados como responsáveis pela redução da produtividade, contudo, a maioria dos criadores de ovinos entrevistados neste estado, relatou o aparecimento frequente de doenças infecciosas como uma das principais limitações para a criação e constituem sério entrave ao desenvolvimento da ovinocultura, por representarem parcela considerável nas perdas de animais e de seus produtos, com grande repercussão na economia. Considerando-se a importância dessas doenças na cadeia produtiva e reprodutiva da ovinocultura no estado da Bahia que é de extrema importância, salientando-se a escassez de dados epidemiológicos sobre o *C. pseudotuberculosis* no estado e a preocupação dos produtores com relação aos testes sorológicos para brucelose, por se tratar de uma doença reprodutiva e não existir ainda uma exigência de teste negativo para animais que frequentam feiras e exposições, este trabalho se deteve em estudar estas prevalências destas duas enfermidades no rebanho ovino do município de Pintadas – Bahia.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi realizar uma investigação soro-epidemiológica da Brucelose ovina e da Linfadenite caseosa em ovinos no município de Pintadas no estado da Bahia e caracterizar o sistema de produção da região.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar sorologicamente a prevalência da Brucelose (*B. ovis*) e da Linfadenite caseosa (*C. pseudotuberculosis*) em ovinos criados nas propriedades do município de Pintadas do estado da Bahia;
- Caracterizar o sistema de produção da região a partir de questionário epidemiológico;
- Implementar junto com órgão de defesa medidas de educação sanitária para prevenção da Brucelose ovina e da Linfadenite caseosa.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Brucelose ovina

3.1.1 Histórico

David Bruce, em Malta, no ano de 1886 isolou o agente da febre ondulante ou febre de Malta, designado inicialmente como *Micrococcus melitensis* e mais tarde, em homenagem a Bruce, foi classificado como *Brucella mellitensis*. Com o passar dos anos, com o isolamento do bacilo em leite de cabra e em caso de abortamento de vacas, em 1920 foi agrupado num gênero, *Brucella* e as espécies em *mellitensis* e *abortus* (CARVALHO et al., 1995). Buddle & Boyes (1953) relataram o isolamento de um organismo semelhante a partir de epididimite em carneiros na Austrália sugerindo que o mesmo se tratasse de um mutante de *Brucella melitensis*. Buddle (1956) denominou o organismo como *Brucella ovis* (LEON, 1994).

No Brasil já existem relatos da presença da brucelose em ovinos em vários estados como: Distrito Federal, Maranhão, Minas Gerais, Pernambuco, Santa Catarina, São Paulo e Rio Grande do Sul (CARVALHO JUNIOR et al., 2010). No Rio Grande do Sul foi relatado o primeiro diagnóstico por Ramos et al. (1966) e em 1996, Magalhães Neto & Gil-Turnes, determinaram uma prevalência de 13,43% através da Imunodifusão em Gel de Ágar. No Nordeste a doença tem sido observada em vários estados. No Rio Grande do Norte a enfermidade foi diagnosticada em 13 municípios dos 14 estudados, confirmando a infecção por *B. ovis* na região, afetando ovinos de ambos os sexos, adultos e jovens e de diferentes raças. (SILVA et al., 2003; AZEVEDO et al., 2004).

No estado da Bahia, utilizando o teste sorológico de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA), Silva et al. (2009), determinaram uma prevalência de 3,28% na região do Recôncavo. Souza et al. (2011), testando soros de ovinos na Microrregião de Juazeiro-Ba, obtiveram uma prevalência de 0,72%. Araújo et al. (2013), pesquisando *B. ovis* na Microrregião de Feira de Santana-Ba, relataram uma prevalência de 6,94% através do IDGA. Estes resultados demonstram inequivocamente a presença da enfermidade neste estado.

3.1.2 Etiologia

O gênero *Brucella* é composto por pequenas bactérias cocobacilares, medindo de 0.6 a 1µm, são gram-negativas, Ziehl-Neelsen modificada (ZNM) positivas, não capsuladas, não esporuladas, e imóveis. São parasitas obrigatórios e necessitam de um hospedeiro para sua manutenção (MAFRA, 2003; WALKER, 2003).

As culturas são incubadas em um ambiente de 37°C e com aeração de 10% de CO², não sendo possível o crescimento com temperaturas abaixo de 26°C. Crescem entre 3 a 5 dias, formando colônias secas, de coloração amarelada, opacas, friáveis e exigem um meio enriquecido com 5% de soro (ALTON et al.,1988; BURGESS, 1982).

Atualmente já foram descritas sete tipos de espécies de *Brucella*: *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus*, *B. ovis*, *B. neotomae*, *B. canis* e *B. maris*. A morfologia da colônia que diferencia entre lisa ou rugosa do gênero *Brucella* spp. está diretamente associada à composição bioquímica do lipopolissacarídeo da parede celular, e para algumas espécies tem relação com a virulência. As *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*, apresentam uma morfologia de colônia do tipo lisa, e quando ocorre uma evolução para formas rugosas ou mucóides, deixam de ser patogênicas, como é o caso da colônia das *B. ovis* e *B. canis* (BRASIL, 2005).

A brucelose ovina é causada pela *Brucella ovis*, sendo uma doença infectocontagiosa, de caráter crônico. Esta bactéria tem predileção pelo sistema reticuloendotelial e pelo trato genital, causando especificamente um quadro de epididimite e orquite nos machos e abortamento nas fêmeas, além de mortalidade perinatal de cordeiros, com redução da eficiência reprodutiva dos rebanhos e conseqüentemente, elevada perdas econômicas à ovinocultura (MAGALHÃES NETO E GIL-TURNES, 1996; EISTEN, 1999).

3.1.3 Epidemiologia

A brucelose ovina está presente em todos os países onde a ovinocultura é uma atividade de importância econômica (ROBLES, 1998a), sendo que *B. ovis* foi referida na Austrália, América do Norte e do Sul, Nova Zelândia, África do Sul e em vários países da Europa (OIE, 2012). A brucelose em pequenos ruminantes foi relatada em alguns países,

como Venezuela (ARIAS et al., 2007), Egito, Índia, Emirados Árabes Unidos, Sudão, Omã (GUL; KHAN, 2007), Brasil (PEIXOTO et al., 2008) e México (TORRES et al., 1997).

No Brasil, trabalhos recentes demonstram a ocorrência da doença em vários estados, ainda que em pequena intensidade (Tabela 1). Isto demonstra que a doença está difundida no país, no entanto, não há relatos sobre a magnitude das perdas econômicas relativas a esta doença (MARQUES, 2006; CLEMENTINO et al., 2007; PINHEIRO JUNIOR et al., 2008; LIRA & MEGID, 2009; RIZZO et al., 2009; SILVA et al., 2009; ALVES et al., 2010).

Tabela 1: Estudos realizados no Brasil sobre a frequência de *Brucella ovis* em rebanhos ovinos

Estado	Animais soropositivos	Método	Autores
Alagoas	3,1% (18/579)	IDGA	Pinheiro Junior et al. (2009)
	5,57% (28/498)	IDGA e FC	Clamentino et al. (2007)
Paraíba	7,5% (6/80)	IDGA	Alves et al. (2010)
Pernambuco	16,25% (26/160)	IDGA	Coletto et al. (2003)
	3,28% (6/183)	IDGA	Silva et al. (2009)
	0,72% (5/694)	IDGA	Souza et al. (2011)
Bahia	6,94% (55/793)	IDGA	Araújo et al. (2013)
Mato Grosso do Sul	12,7% (153/1.198)	IDGA	Juliano et al. (2011)
Minas Gerais	0% (0/334)	FC	Salaberry et al. (2011)
	34% (103/290)	IDGA	Silva et al. (2003)
Rio Grande do Norte	11,3% (13/115)	IDGA	Azevedo et al. (2004)
	13,43% (220/1.638)	IDGA	Magalhães Neto & Gil-Tunes (1996)
Rio Grande do Sul	0% (0/33)	IDGA	Gomes et al. (2001)
	0% (0/850)	IDGA e FC	Marinho & Mathias (1996)
	12% (124/1.033)	IDGA	Nozaki et al. (2004)
	1,96% (4/204)	IDGA	Rizzo et al. (2009)
São Paulo	1,7% (5/294)	FC	Rizzo et al. (2014)
Santa Catarina	0% (0/69)	IDGA	Schafer et al. (1997)

*IDGA = Imunodifusão em Gel de Ágar

*FC = Fixação de Complemento

A transmissão ocorre de forma venérea entre machos previamente infectados com fêmeas sadias ou por atividade homossexual entre carneiros (sodomia) que cobrem outros machos contaminando através da mucosa retal (contaminação direta), ou uma contaminação indireta pela mucosa nasal, palpebral ou prepucial. Possui, entretanto, tropismo por tecidos

reprodutivos, mas até agora o mecanismo de persistência bacteriana não é compreendido (RAMOS et al., 1966; BURGESS, 1982; ANTUNES et al, 2013).

No entanto, outras fontes são descritas como pastos e fômites contaminados através de placentas ou fetos, frutos de abortamentos de ovelhas contaminadas (BUDDLE & BOYES, 1953; BURGESS, 1982). Devido à baixa persistência do agente no aparelho reprodutivo, a ovelha atua muitas vezes como vetor mecânico, portanto possui papel menos importante na transmissibilidade comparada aos machos que podem difundir seu sêmen infectado por período de 2 a 4 anos (CFSPH, 2009). O agente uma vez presente poderá ser recuperado do sêmen, de placentas, secreções mamárias e até mesmo de fetos abortados de animais infectados, mesmo na ausência de lesões visíveis (BUDDLE, 1956; LIRA & MEGID, 2009).

Embora não seja considerada uma zoonose, a brucelose ovina provoca consequências devastadoras na economia, com a substituição de animais com baixa fertilidade, perda de animais com alto valor zootécnico, além de gastos com exames do rebanho para detectar e eliminar a doença na propriedade (GALL et al., 2003).

Contudo, um animal infectado na condição de reservatório ou animal doente vai agir como fonte de infecção, contaminando o pasto, água e alimentos através das secreções e excreções corporais, como secreções do trato reprodutivo, anexos fetais, leite e urina, constituindo vias de eliminação do agente (BRASIL, 2006; LIRA; MEGID, 2009).

3.1.4 Patogenia e Resposta Imune

A bactéria penetra nos animais suscetíveis através das mucosas intactas, como mucosa peniana, retal ou vaginal, podendo permanecer nelas por um mês, devido à propriedade de resistir à destruição intrafagocitária, evitando ou suprimindo a resposta bactericida, multiplicando-se lentamente no interior dos macrófagos e neutrófilos (PESSEGUEIRO; BARATA; CORREIA., 2003; WALKER., 2003).

No decorrer da infecção com uma bacteremia intermitente, o agente provoca sua disseminação e localização nos órgãos sexuais e através dos linfonodos, atinge o baço, rins e fígado, onde, devido à ineficiência dos fagócitos em sua destruição, produzem-se abscessos e

reações inflamatórias crônicas, caracterizadas por fibrose e calcificação (RADOSTITS et al., 2002; QUINN et al., 2005).

Contudo, a predileção do microrganismo pelos órgãos reprodutivos tem relação com o eritritol, um álcool utilizado pelo agente como fonte de energia para seu crescimento, existente em elevadas concentrações em placenta, glândula mamária e epidídimo de bovinos, ovinos, caprinos e suínos (GUL; KHAN, 2007). Os rebanhos se contaminam durante estações de monta ou através de outros carneiros que convivem no mesmo ambiente, no ato de cheirarem ou lambar-se. Após esse contágio a bactéria tem localização nos epidídimos nos machos e em placentas nas fêmeas. Nos epidídimos causa uma reação imunológica na cauda após o extravasamento do esperma, resultando em espermatocelose e conseqüente redução da fertilidade. A eliminação do micro-organismo se dá pelo ejaculado. Nas ovelhas em que a infecção persiste, até o abortamento, o microrganismo está presente na placenta, nos corrimentos vaginais e no leite (BLASCO, 1990; PESSEGUEIRO; BARATA & CORREIA, 2003).

A bactéria se multiplica nos órgãos afetados, sendo eliminada à medida que as células infectadas são destruídas, mediada pelo complemento com a presença de IgM e baixa concentração de IgG. Esta constante eliminação de bactérias estimula o sistema imune, favorecendo elevados teores de anticorpos IgG, que parecem agir como anticorpos bloqueadores capazes de promover a lise celular. Entretanto, a presença da IgG é de grande importância no diagnóstico (WALKER., 2003).

Nos machos, a brucelose genital está associada com a duradoura resposta antiespermática, com a presença de anticorpos antiesperma e resposta imune celular contra esperma e tecido testicular autólogo, e essa exposição dos antígenos espermáticos ao sistema imunológico através de um trauma ou infecção genital, resulta em elevados índices de anticorpos que persistem por anos. Além disso, ocorre uma leucocitoespermia, onde os leucócitos iram produzir citocinas e radicais livres que iram diminuir a motilidade e o potencial de fertilização dos espermatozoides, alterando assim o volume seminal (PAOLICCHI; CASARO & GIMENO, 2000).

3.1.5 Achados Clínicos e Anatomopatológicos

A *Brucella ovis* provoca uma enfermidade de caráter crônico nos machos, provocando um processo inflamatório com formação de granulomas espermáticos, podendo resultar em subfertilidade ou infertilidade nos machos provocando assim, grandes perdas econômicas (ROBLES et al., 1998b; PAOLICCHI et al. 1999; SILVA et al., 2003; SILVA et al., 2009).

Nos machos, a fase aguda da doença se caracteriza por aumento testicular, presença de edema, exsudato fibrinoso na região da túnica vaginal, hiperemia testicular e edema do epidídimo. Contudo, na fase crônica há o surgimento de regiões hipertrofiadas e endurecidas à palpação testicular, deformações na cauda do epidídimo, com abscessos de extensão variável e a bolsa escrotal pode apresentar aderências fibrosas, obstruindo a cavidade que separa as túnicas (ROBLES, 1998a). Entretanto, a atrofia testicular e conseqüentemente a má qualidade do sêmen, estão sempre relacionadas às lesões no epidídimo, todavia, a epididimite sempre será a causa primária (CARVALHO JUNIOR, et al., 2010) (figura 1 – A e B).

Em contraste com os carneiros, as ovelhas são relativamente mais resistentes à infecção, por isso, exercem importante função na difusão da doença, pois muitas vezes são negligenciadas sob o ponto de vista de controle da doença. Entretanto, sua principal sintomatologia é a placentite, com abortamento ou morte neonatal de cordeiros (MARCO et al., 1994).

No município de Serra Preta-Bahia, em um relato de caso, Madureira et al. (2013), identificaram um ovino soropositivo através do IDGA, apresentando as seguintes alterações histológicas: aderência do epidídimo ao testículo, com intensa proliferação de tecido conjuntivo fibroso ao redor dos ductos epididimários, degeneração do epitélio dos ductos, moderada infiltração linfocitária intersticial difusa. No epidídimo, testículo e tecidos adjacentes, verificou-se extensa proliferação de fibroblastos, múltiplas lesões granulomatosas, caracterizadas por área central de mineralização distrófica sobre área de necrose, envolta por intenso infiltrado inflamatório composto por neutrófilos, macrófagos espumosos e linfócitos. O testículo apresentava evidente diminuição das células da linhagem espermática (figura 1 – C).

Figura 1: Epididimite ovina por *Brucella ovis*. [A] Orquite e epididimite bilateral, aumento de volume da bolsa testicular, com consistência firme e ausência de mobilidade testicular. [B] Punção testicular com presença de exsudato serosanguinolento. [C] corte longitudinal – aderência do epidídimo ao testículo, com intensa fibrose do escroto, testículo e epidídimo, espessamento da túnica albugínea (seta 1); grande cavidade cística, preenchida por material sero-sanguinolento e com tecido necrótico associado a um exsudato purulento (seta 2); abscessos e focos de necrose na cauda do epidídimo, parênquima testicular e tecidos adjacentes (seta 3).



Arquivo pessoal

3.1.6 Diagnóstico

O diagnóstico da Brucelose ovina se dá através do exame clínico, por exame bacteriológico, espermiograma ou através de métodos sorológicos. No entanto, o exame clínico não é suficiente para identificar a doença, devido à existência de animais assintomáticos e a presença de outros agentes causadores de epididimite, sendo necessário o isolamento do agente (FICAPAL et al., 1998; COLETO et al., 2003).

O diagnóstico de maior confiabilidade é obtido por meio do isolamento e identificação do microrganismo (diagnóstico direto) quando há um grande número de animais suspeitos, e são pesquisados os materiais como: placenta, conteúdo do estômago do feto, bem como pulmões e fígado e o corrimento vaginal em caso de abortamento, integrando-os com os de gânglios linfáticos, úbere, útero, vesículas seminais, glândulas acessórias, testículo, epidídimo e outros órgãos que tenham lesões macroscópicas. Contudo, possui sensibilidade limitada, alto custo e execução demorada o que dificulta sua aplicação em um número grande de amostras para campanhas de controle (PINHEIRO JUNIOR et al., 2008).

Alves et al. (2010) foram os pioneiros na extração do DNA de *B. ovis* pela técnica de PCR em ovinos no estado da Paraíba. Utilizando fragmentos de testículos, epidídimo e útero, obtiveram resultado positivo para *B. ovis* em todas as amostras testadas. A PCR tem demonstrado que esta técnica adaptada pode ser uma alternativa de diagnóstico na

confirmação de infecção, devido ao diagnóstico rápido. O isolamento é muito demorado e não é prático para ser utilizado em testes de rotina de animais assintomáticos (NOZAKI et al., 2011).

Entretanto, quando se refere a rebanho, existem técnicas sorológicas (diagnóstico indireto) que são mais amplamente utilizados para detectar anticorpos anti-*Brucella* e que auxiliam em um diagnóstico mais preciso, como a Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA), a Aglutinação Hemaglutinação indireta, a Fixação de Complemento (FC), o Ensaio Imunoabsorvente Ligado a Enzima (ELISA) (MAGALHÃES NETO & GIL-TURNES, 1996; VIGLIOCCO et al, 1997; EISTEN, 1999; NOZAKI et al., 2004).

A técnica de IDGA foi descrita e utilizada pela primeira vez no Brasil por Ramos et al., (1966) no qual 6,5% dos soros testados foram reagentes ao teste. A prevalência da infecção por *B. ovis* é variável em diversas partes do mundo e depende, também, do método e/ou da prova diagnóstica utilizada, variando de 2,4% a 26% dos carneiros examinados nos trabalhos realizados em outros países (TAMAYO; VALENTIN & SCHUZBITZ, 1989; TORRES et al., 1997).

No Nordeste a técnica de IDGA foi utilizada e relatada pela primeira vez no Rio Grande do Norte por Silva et al., (2003) e Azevedo et al., (2004); Em Pernambuco por Coletto et al., (2003); Seguindo por Clamentino et al., (2007) e Alves et al., (2010) na Paraíba; Em Alagoas com estudos de Pinheiro Junior et al., (2009) e a Bahia com estudos de Silva et al., (2009), Souza et al., (2011) e Araújo et al., (2013).

3.1.7 Diagnóstico Diferencial

As enfermidades mais importantes que levam à subfertilidade ou à infertilidade em carneiros são causadas pelos agentes bacterianos como *Brucella ovis*, *Histophilus somni* e *Actinobacillus seminis*, porém *Salmonella enterica*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Pasteurella multocida* e *Corynebacterium pseudotuberculosis* também podem estar associados à epididimites em carneiros. Os agentes virais podem estar presentes no trato genital ovino, como Maedi-visna, língua azul e o Herpesvírus ovino tipo 2, embora não tenham sido relatadas lesões causadas por estes patógenos, porém somente o vírus da língua azul

apresentou capacidade de causar queda na fertilidade de machos acometidos. (PASTOR; BLASCO & BARBERÁN, 2009; CARVALHO JUNIOR et al., 2010; BEZERRA et al., 2012). Nas fêmeas, os patógenos que podem provocar distúrbios reprodutivos, são a *Brucella abortus*, *Campylobacter fetus*, *Chlamydia psittaci* e *Listeria monocytogenes* (RADOSTITS et al., 2002).

Em trabalho realizado por Carvalho-Junior et al. (2010) nos rebanhos paulistas, onde encontraram uma baixa ocorrência de *B. ovis*, puderam concluir que outros agentes etiológicos poderiam estar envolvidos nas alterações, uma vez que foram utilizados somente animais sabidamente com distúrbios reprodutivos. Portanto neste estudo, fez-se necessário o isolamento bacteriano para *Actinobacillus seminis*, *Campylobacter* spp., *Histophilus somni*, *Micoplasmas*, além de sorologia para alguns vírus, como o da Maedi-Visna, Língua Azul e Herpesvírus ovino tipo 2. Além dos protozoários, como *T. gondii* e *N. caninum* (RIZZO et al., 2014).

3.1.8 Tratamento, Controle e Profilaxia

A doença em animais de produção, não possui tratamento específico, sendo o diagnóstico precoce, baseado nos testes sorológicos, uma alternativa para reduzir ou até mesmo erradicar a doença entre os rebanhos. O exame clínico não é suficiente para considerar o animal negativo, sendo importante para o diagnóstico definitivo a utilização de exames sorológicos. Os testes laboratoriais de maior valor são a fixação de complemento, imunodifusão em gel (IDGA) e ELISA (COLETO et al., 2003; NIELSEN et al., 2007; GOUVEIA et al., 2010).

De forma geral, essa enfermidade provoca uma acentuada queda na produção podendo comprometer a rentabilidade da atividade na exploração destes animais. Medidas de controle estão sendo preconizadas pelo Plano Nacional de Vigilância e Controle da Epididimite Ovina (PNVCEO), com exceção da vacinação, que não existe para ovinos no país. Assim, recomenda-se o diagnóstico precoce utilizando teste bacteriológico e/ou sorológico e os animais positivos devem ser destinados ao abate sanitário, seguido de visita e interdição do estabelecimento onde ocorreu o caso. O trânsito e a participação de animais machos não castrados, acima de seis meses, em feiras e exposições, se faz mediante a apresentação da guia

de trânsito animal (GTA) acompanhado de testes negativos, sendo o IDGA conclusivo para o trânsito e válido durante o período do evento (ESTEIN, 1999; BRASIL, 2004).

O “Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos - PNSCO” através da instrução Normativa n. 87 da Secretaria de Defesa Agropecuária, de 10 de dezembro de 2004, aprovou o Regulamento Técnico do PNSCO, com o controle e erradicação das doenças de caprinos e ovinos, por meio de ações sanitárias e de vigilância epidemiológica executada pelos serviços oficiais e médicos veterinários cadastrados. Dentre as estratégias de atuação estão o cadastro de estabelecimentos, controle de trânsito de animais, certificação de estabelecimentos, cadastramento de Médicos Veterinários do setor privado e credenciamento de laboratórios para realização de exames diagnósticos das doenças de controle oficial, entre elas *B. ovis* (BRASIL, 2009).

Contudo, diversos estudos apontam a necessidade de um rigoroso manejo higiênico-sanitário nas instalações para evitar as falhas, pois são fatores de risco à introdução e manutenção de focos de *B. ovis* nos rebanhos. Dentre eles pode-se destacar a remoção e destinação de fezes, que contaminam bebedouros e comedouros, a introdução de ovinos de rebanhos não-livres de brucelose ou de estado sanitário desconhecido, a participação em feiras e exposições agropecuárias e o contato entre diferentes rebanhos em pastagens comuns. Em contrapartida, a desinfecção de instalações mais de três vezes ao ano com o uso de desinfetantes, o fornecimento de água encanada e a disponibilidade de serviço veterinário na propriedade diminuem o risco da infecção (REVIRIEGO et al., 2000; SANTOS et al., 2013).

3.2 Linfadenite caseosa (LC)

3.2.1 Etiologia

A linfadenite caseosa (LC) mais conhecida como mal do caroço ou pseudotuberculose acomete populações de pequenos ruminantes em todo o mundo é uma doença infecto-contagiosa causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*, caracterizada por abscessos nos linfonodos superficiais e ou internos sendo os mais comumente acometidos os linfonodos parotídeo, retrofaríngeo, mandibular, pré-femoral e poplíteo (LOFSTED, 2002); RADOSTITS et al., 2002; PUGH, 2005), podendo causar ainda lesões em vísceras (CAMERON & MINNAR, 1969).

Morfologicamente o microrganismo é classificado como um bacilo Gram positivo, curto e irregular, medindo 0,5-0,6 μm por 1-3 μm que também pode apresentar-se em formato cocóide ou bacilar filamentososo, anaeróbico facultativo, não esporulado, imóvel e parasita intracelular facultativo, cujo principal fator de virulência é uma exotoxina, que é uma Fosfolipase D. No solo infectado com pus pode sobreviver por até 8 meses, em instalações e equipamentos de uso coletivo infectados, vive aproximadamente 4 meses e em palha, feno e outros fomitês por até 2 meses, podendo resistir mais tempo caso encontre meios adequados, como temperaturas baixas e condições úmidas (WALKER, 2003; ALVES; SANTIAGO & PINHEIRO, 2007; SOUZA et al., 2011) (Figura 1).

C. pseudotuberculosis trata-se de uma bactéria exigente que requer para seu bom crescimento meios suplementados com soro animal ou proteínas vegetais, como o ágar-sangue e o ágar ou caldo BHI (“Brain Heart Infusion”), apresentando rendimento aumentado quando, a este último, acrescenta-se extrato de levedura, triptona ou lactoalbumina. No ágar sangue, formam-se colônias pequenas de coloração branco-acinzentada, opacas e friáveis, após um período de 24 a 48 horas. Após alguns dias de incubação, as colônias podem tornar-se amarelo-esbranquiçadas (CAMERON & SWART 1965; QUINN et al., 2005; MOURA-COSTA, 2002).

Figura 2: Microscopia de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em lâmina após coloração de Gram.



Fonte: BacMap – Genome Atlas

3.2.2 Epidemiologia

A enfermidade é de considerável importância na economia da ovinocaprinocultura. Nos ovinos, a infecção causa uma redução de 6,6% de peso da lã limpa e diminuição da taxa de crescimento. Em relação às carcaças, há uma condenação de 3 a 5% para carneiros adultos e de 0,02 a 0,03% para cordeiros, sendo assim, torna-se uma das enfermidades com maior índice de condenação de carcaças para o consumo humano (RADOSTITS, 2002).

No Nordeste brasileiro, onde a venda da pele é um elemento de renda importante para o pequeno produtor local, estimou-se que a presença de defeitos superficiais reduziria o valor mercadológico das peles em até 40% (FIGUEIREDO et al., 1982). O efeito da infecção por *C. pseudotuberculosis* na produção e qualidade da lã de ovelha foi examinado na Austrália, demonstrando uma perda brutal na produção de lã limpa que saltou de 4,1 para 6,6%, causando uma perda de US\$ 17 milhões para as indústrias de lã australianas (PATON et al., 1994).

A linfadenite caseosa é importante economicamente em vários países, particularmente nos países em que a caprino e ovinocultura são importantes como fontes de subsistência e renda para pecuaristas. Ocorre no Brasil elevada incidência de linfadenite caseosa nos rebanhos, onde os prejuízos são elevados. Animais com suspeita de abscessos não devem ser adquiridos, e a realização da necropsia deverá ser efetuada por médico veterinário por se tratar de material altamente infectante (LUCAS et al., 2009).

Os estados do nordeste do Brasil, principalmente a Bahia, são os que apresentam relatos de maior frequência de Linfadenite Caseosa em decorrência da grande concentração desses animais, 93% da população de caprinos e 59% da população ovinos, do tipo de vegetação que contém espinhos e do baixo grau de instrução dos criadores, entretanto a quantificação das perdas econômicas é difícil de ser verificada (EBDA, 2000; MOURA-COSTA, 2002; IBGE, 2010). Entretanto, Araújo et al. (2013), Lima et al. (2013) e Pinheiro (2015) analisando os questionários realizados em seus trabalhos com os criadores de ovinos e caprinos, relataram a ocorrência desta enfermidade em 63,26%, 95,65% e 77,55% respectivamente das propriedades visitadas.

De acordo com pesquisa realizada em abate de ovinos em frigorífico na Paraíba por Souza et al. (2011), a prevalência é mais observada em fêmeas (17,9%) do que em machos

(13,8%), devido provavelmente, ao tempo que as fêmeas permanecem na propriedade antes do abate, necessariamente, maior do que os machos.

Um dos fatores importantes que classifica a região nordeste com maior índice de prevalência da doença, seria o predomínio de plantas cactáceas nas pastagens, que provocam ferimentos na pele dos animais, favorecendo a contaminação e a disseminação do microrganismo. Acredita-se que animais criados extensivamente são menos expostos ao patógeno do que aqueles criados soltos durante o dia e confinados à noite ou totalmente confinados, predispondo assim o contágio entre os animais sadios (PINHEIRO et al., 2000; RIET-CORREA et al., 2003).

A transmissão da doença geralmente acontece principalmente do contato de animais sadios com outros animais de regiões onde há a doença. O agente é eliminado por descargas oronasais, secreção purulenta de linfonodos abscedados e ocasionalmente, pelo leite. O abscesso quando rompido ocorre a subsequente contaminação da pele do animal e do ambiente através do conteúdo, podendo, então, ocorrer à transmissão pelo contato direto dos animais sadios com o animal infectado ou, indiretamente, via fômites ou aerossóis contaminados (COLLETT; BATH & CAMERON, 1994; MEYER et al, 2005; PUGH 2005; DORELLA et al., 2006).

A capacidade do microrganismo em sobreviver no solo e no ambiente, contribui para a disseminação da doença, dificultando, conseqüentemente, a sua erradicação. Portanto, procedimentos de manejo que podem acarretar em lesões na pele, como em casos de tosa, marcações, corte de caudas e umbigo e castrações, ou utensílios de uso coletivo, como comedouros e bebedouros, podem contribuir para a disseminação em um rebanho (AUGUSTINE & RENSHAW, 1986; WINDSOR, 2011).

3.2.3 Patogenia e resposta imune

Após exposição, o microrganismo penetra em superfícies mucosas ou pele lesionada do hospedeiro e migra através da circulação linfática para os linfonodos, onde irá provocar a lesão. Com uma infiltração de leucócitos polimorfonucleares, principalmente neutrófilos neste local, ocorre a formação de granulomas no linfonodo acometido (ESTEIN, 1999; QUINN et al., 2005).

Esta doença tem um curso crônico e é responsável pela formação de granulomas nos linfonodos e órgãos internos, o qual é formado por tecido necrótico contendo pus de cor verde claro a amarelo, cercado por células do sistema imune (macrófagos, e principalmente, linfócitos) (PEPIN et al.1994; RADOSTITS et al., 2002).

A patogenicidade do *C. pseudotuberculosis* envolve a exotoxina de fosfolipase D (PLD) e um lipídio de superfície ácido micólico. A PLD provoca uma inflamação com necrose tecidual e aumento da permeabilidade vascular, promovendo a capacidade de invasão do organismo e o transporte para linfonodos regionais através de fagócitos. A superfície lipídica pode fornecer ao organismo uma resistência à atividade antibacteriana dos fagócitos (WINDSOR, 2011).

A imunidade contra *C. pseudotuberculosis* envolve os dois mecanismos do sistema imune, o mediado por células e humoral. Entretanto, por ser uma bactéria intracelular facultativa, a resposta mediada por células se constitui na principal arma do hospedeiro para combater a infecção através da fagocitose. As células Th1 são as responsáveis pela indução da produção de citocinas, essenciais para o controle da doença, atuando na defesa contra patógenos intracelulares facultativos, inclusive *C. pseudotuberculosis* (LAN et al., 1999; ELLIS et al., 1991; MEYER et al, 2005).

De maneira similar ao que ocorre no diagnóstico de outras doenças envolvendo parasitas intracelulares facultativos, a resposta imune adquirida é iniciada quando a infecção supera os mecanismos de defesa inata. Esta resposta se torna efetiva somente após vários dias do início da infecção e envolve mecanismos humorais e celulares de proteção. Entretanto, este tipo de agente possui um mecanismo de escape com resistência à fagocitose e a digestão lisossomal, que podem levar à formação de lesões crônicas ou recidivantes. Estes patógenos possuem estratégias contra a imunidade humoral, sobrevivendo ao mecanismo de destruição, proliferando dentro dos fagócitos e de outras células do hospedeiro, o que os tornam inacessíveis aos anticorpos circulantes. Portanto, a defesa contra essas infecções fica a cargo da imunidade celular, que funciona promovendo destruição dos microrganismos que residem nos fagócitos ou lisando às células infectada (RUSSELL et al., 1994; MEYER et al., 2005; ABBAS et al., 2008).

3.2.4 Sinais Clínicos e Anatomopatológicos

A doença se caracteriza clinicamente por processos piogranulomatosos crônicos em várias espécies de animais de produção. Nos pequenos ruminantes, atinge principalmente linfonodos submandibulares, pré-escapulares, pré-femorais, supramamários e poplíteos. Em outras espécies, o microrganismo não fica restrito aos linfonodos superficiais e se dissemina pela via linfática para diversos órgãos, tendendo a desenvolver a forma crônica da doença, caracterizada por emagrecimento, dispneia, taquipneia e tosse crônica, também denominada “forma visceral” ou “síndrome da ovelha magra” ou “caprino definhado”, as quais caracterizam-se pela perda crônica de peso, subfertilidade, queda na produção de leite e redução no número de nascimentos de cordeiros (RIET-CORREA et al. 2004, PUGH 2005, RADOSTITS et al. 2002; BELKNAP, 2004; MOTTA, CREMASCO & RIBEIRO, 2010).

Paton (1997) afirmou que nos ovinos, as lesões são mais raras na região da cabeça e do pescoço, sendo mais susceptível a forma visceral. Em ovelhas, é comum a disseminação da infecção do linfonodo supramamário para o tecido mamário, acarretando uma redução na produção de leite (RADOSTITS et al., 2002). Em carneiros podem ocorrer à formação de abscessos em linfonodos inguinais e escrotal, mas, no entanto não haverá comunicação com os testículos e epidídimo, não afetando assim a qualidade do sêmen, nem disseminação do microrganismo através do coito (WINDSON, 2011). No entanto, as infecções também podem ser assintomáticas, o que dificulta as análises epidemiológicas sobre a prevalência da doença (ARSENAULT et al., 2003; PATON et al., 1994).

Na histologia as lesões da linfadenite caseosa são caracterizadas por áreas de necrose central, formada por lamelas concêntricas, com presença de grandes colônias bacterianas e focos de mineralização, rodeada por uma faixa de infiltrado inflamatório com macrófagos epitelióides e poucos neutrófilos. Na camada adjacente observaram-se linfócitos e plasmócitos e toda a lesão delimitada por tecido conjuntivo fibroso. No entanto, as lesões histológicas causadas por *C. pseudotuberculosis* são características, mas não patognomônicas, pois podem ser confundidas com lesões causadas por outros organismos piógenos e com tuberculose. Portanto o isolamento bacteriológico é imprescindível para o diagnóstico definitivo da linfadenite caseosa (SOUZA et al., 2011).

3.2.5 Diagnóstico

No diagnóstico da linfadenite caseosa em pequenos ruminantes estão sendo realizados diversos métodos, como os testes sorológicos (soroneutralização, IDGA, hemaglutinação indireta, FC e ELISA) e técnicas de biologia molecular, como o PCR. No entanto, as técnicas sorológicas possuem desvantagens em relação às reações inespecíficas e os resultados individuais que dificultam o trabalho com um número maior de animais (MOURA-COSTA, 2002; MOTTA, CREMASCO & RIBEIRO, 2010).

Técnicas moleculares como a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), tem sido usadas para identificar *C. pseudotuberculosis*, e são uma alternativa aos métodos convencionais de diagnóstico, com a vantagem de serem mais rápidos e mais específicos (ÇETINKAYA et al. 2002). Kumar et al. (2013), demonstraram que pode ser aplicado para o diagnóstico e controle da LC. Além disso, o ensaio também pode ser aplicado para detectar *C. pseudotuberculosis* em diferentes amostras clínicas. Pacheco et al. (2007), ao testar a eficácia do PCR e identificando positividade nas 40 amostras analisadas, afirmaram que se trata de uma técnica que pode substituir facilmente a cultura bacteriana para o diagnóstico microbiológico e epidemiológica da LC.

Ribeiro et al. (2001), sugeriram pela primeira vez no país, a utilização de uma técnica no diagnóstico citológico associado ao isolamento do *C. pseudotuberculosis* do material aspirado. A CAAF (punção aspirativa com agulha fina) é um método de triagem alternativo no diagnóstico da linfadenite caseosa, considerada de grande impacto, decorrente dos prejuízos provocados na produção de carne, leite e na comercialização da pele, bem como sua importância em saúde pública, pelo potencial zoonótico do agente (RIBEIRO et al. 2001; DORELLA et al. 2006).

Entretanto, a prática de isolamento microbiano de *C. pseudotuberculosis* a partir do material purulento de linfonodos, abscessos e/ou órgãos é passível de ser obtida através de suas características morfológicas e de crescimento em determinados meios de cultura, permanecendo como o procedimento mais fidedigno na rotina de diagnóstico “in vivo”, associando às provas bioquímicas e ao padrão de hemólise no ágar sangue (RIBEIRO et al. 2001; MOURA-COSTA, 2002).

Na região Nordeste, onde a incidência é alta, Pinheiro et al. (2000), analisaram 127 propriedades no estado do Ceará, verificando que a ocorrência de LC é de 66,9%. Na Bahia, pesquisas realizadas por Moura-Costa et al. (2008) e Rebouças et al.(2013), analisando resposta humoral e amostras de animais contaminados, demonstraram a confiabilidade e a viabilidade da técnica do ELISA indireto como uma ferramenta para identificar ovinos infectados por *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Este ensaio de imunodiagnóstico pode ser empregado no programa de controle e erradicação da Linfadenite caseosa, com a possível detecção eficiente de animais infectados e com a probabilidade de reduzir e eliminar os falsos positivos.

3.2.6 Tratamento, Controle e Profilaxia

A vacinação adequada é a forma mais eficaz para controlar a disseminação da doença em rebanhos ovinos. Paton et al. (2003) afirmaram que se houvesse um programa de vacinação eficaz contra a LC, haveria uma significativa redução da prevalência da doença, alcançando cerca de 70% de proteção, aliado a medidas educativas para os produtores com o intuito de difundir a importância da vacinação.

Windsor (2011) descreve meios para reduzir esta carga de patógenos, embora possa não ser prática para pequenos produtores onde não possuem instalações de manejo adequadas. Ovinos com abscessos podem ser identificados na rotina através da palpação dos linfonodos superficiais e em seguida, colocados em quarentena, para proceder o rompimento e limpeza desses abscessos com uma solução aquosa de iodo à 10% ou clorexidina. Estas instalações de quarentena não devem ser utilizadas com outros animais.

Apesar de existir tratamentos descritos na literatura baseado na terapia com antimicrobianos, no corte e abertura de abscessos, com limpeza e isolamento de animais acometidos com LC e posterior reintrodução no rebanho após cicatrização das lesões, sabe-se, no entanto, que a doença uma vez estabelecida, fica difícil erradicar porque a terapia por drogas não é eficaz e porque a detecção clínica dos animais infectados é de eficácia limitada (DORELLA et al., 2006). Portanto, o melhor procedimento para evitar a propagação da doença é a eliminação de animais infectados (RIBEIRO et al., 2013).

4. REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.K.; LINCHTMAN, A.H.; PROBER, J.S. **Imunologia celular e molecular**. 6ª edição. São Paulo: Elsevier, 2008.
- ALTON, G.G.; JONES, L.M.; ANGUS, R.D.; VERGER, J.M. *Brucella ovis*. Paris: Techniques for the brucellosis laboratory. **INRA**, 1988.
- ALVES, C.J.; FIGUEIREDO, S.M.; AZEVEDO, S.S.; CLEMENTINO, I.J.; KEID, L.B.; VASCONCELLOS, S.A.; BATISTA, C.S.A.; ROCHA, V.C.M.; HIGINO, S.S. Detection of *Brucella ovis* in ovine from Paraíba State, in the Northeast Region of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, p.365-367, 2010.
- ALVES F.S.F., SANTIAGO L.B ; PINHEIRO R.R. Linfadenite caseosa: o estado da arte. **Documentos, Embrapa Caprinos**, Sobral. 60p., 2007.
- ANTUNES, J. M. A. P.; ALLENDORF, S. D.; APPOLINÁRIO, C. M.; CAGNINI, D. Q.; FIGUEIREDO, P. R.; BURATINI JÚNIOR, J.; BAÑOS, J. V.; KOCAN, K. M.; DE LA FUENTE, J. ; MEGID, J. Rough virulent strain of *Brucella ovis* induces pro- and anti-inflammatory cytokines in reproductive tissues in experimentally infected rams. **Veterinary Microbiology**, 2013.
- ARAÚJO, B.R.; COSTA, J.N.; SOUZA, T.S.; LIMA, C.C.V.; LEITE, M.D.X.; COSTA NETO, A.O.; ANUNCIACÃO, A.V.M.; ALMEIDA, M.G.A.R.; LIMA, E.B. Seroepidemiology of sheep brucellosis in the microregion of Feira de Santana, BA, Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.50, n.2, p.129-135, 2013.
- ARIAS, Y.; CÁRDENAS, B. Diagnóstico de brucelosis em ovinos com antígeno de Rosa Bengala al 3 e 8%. **Revista Unellez de Ciencia y Tecnologia**, v. 25, p. 40-43, 2007.
- ARSENAULT, J. et al. Prevalence of and carcass condemnation from maedi-visna, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada. **Prev. Vet. Med.** v. 59, p. 67-81, 2003.
- AUGUSTINE, J.L.; RENSHAW, H.W. Survival of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in axenic purulent exudate on common barnyard fomites. **Am. J. Vet. Res.**, v. 47, p.713–715, 1986.
- AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; ALVES, F.A.L.; CLEMENTINO, I.J.; BATISTA, C.S.A.; AZEVEDO, A.S. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Agropecuária Técnica**, v.25, n.2, p.45-50, 2004.
- BELKNAP, E.B. Enfermidades do Sistema Respiratório. In: PUGH, D.G. **Clinica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: ROCA, p. 141, 2004

BEZERRA, M. J. G.; SANTOS, A. S.; CRUZ, J. A. L. O.; KUNG, E. S.; DE SA, S. G.; JABOUR, F. F.; BRITO, M. F.; MOTA, R. A. Epididimite ovina por *Actinobacillus seminis* no Estado de Pernambuco. **Pesq. Vet. Bras.** v.5, p.369-373, 2012.

BLASCO, J. M., *Brucella ovis*. In: Nielsen K, Duncan J. R, editors. Animal brucellosis. Boca Raton, **FL: CRC Press, Inc**; p. 352–78, 1990.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose_ PNCEBT. **Manual Técnico**. Brasília, 2006.

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: 02/01/2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT). **Secretaria de Defesa Agropecuária – Departamento de Saúde Animal**, Brasília, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos (PNSCO). **Secretaria de Defesa Agropecuária – Departamento de Saúde Animal**, Brasília, 2009.

BUDDLE, M. B. Studies on brucella ovis (N.S.P.), a cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia. Animal Research Station, New Zealand . **In: Journal of Hygienic**.54,351,1956

BUDDLE M.B. & BOYES B.W. A *Brucella* mutant causing genital disease of sheep in New Zealand. **Aust. Vet. J.** v.29, p.145-153, 1953.

BURGESS, G. W. Ovine contagious epididymitis : A review. *Veterinary Microbiology*, **Elsevier Scientific Publishing Company**, Amsterdam, v.7, p.551—575, 1982.

CAMERON, C. M.; MINNAAR, J. L. Immunization of mice against *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection. **Veterinary Research Institute, Onderstepoort**, v. 2, n. 36, p. 207-210, 1969.

CAMERON, C. M., SWART, C. F. A new liquid medium for the cultivation of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **J. S. Afr. Vet. Med. Ass.**, n. 36 v.2 p. 185-188, 1965.

CARVALHO JÚNIOR 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 [Infectious agents that can cause infertility in rams]. **Rev Bras Reprod Anim** 2010, 34:160–167. In Portuguese. Abstract in English.

CARVALHO, M. S.; BARROSO, M. R.; PINHAL, F.; TAVARES, F. M. Brucelose: Alguns aspectos epidemiológicos. *Medicina interna*, v. 2, n. 4, 1995

CFSPH. The Center for Food Security & Public Health. Ovine Epididymitis: *Brucella ovis*. 2009. Disponível em: <<http://www.cfsph.iastate.edu>> Acesso em 15de maio 2014.

ÇETINKAYA B., KARAHAN M., ATIL E., KALIN R., DE BAERE T., VANEECHOUTTE M., Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats by PCR, **Vet. Microbiol.** 2359, 2002.

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**, v.27, n.4, p.137-143, 2007.

COLETO, Z.F.; PINHEIRO JUNIOR, J.W.; MOTA, R.A.; GUERRA, M.M.P.; SIMPLÍCIO, K.M.M.G.; CÂMARA, D.R.; SOARES, R.P.T.; PORTO, W.J.N.; CINTRA JUNIOR, J.E.; FAUSTINO, M.G.; SOUZA, A.F.; BERTO, R.S. Ocorrência de infecção por *Brucella ovis* em ovinos do Estado de Pernambuco e sua participação em distúrbios reprodutivos nesta espécie (estudos preliminares). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.3, p.551-552, 2003.

COLLETT, M.G.; BATH, G.F.; CAMERON, C.M. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections. In: Infectious diseases of livestock with special reference to Southern Africa, 2nd ed, Coetzer, J., Thomson, G.R., Tustin, R.C. (editors.). **Oxford University Press**, Cape Town, p. 1387–1395, 1994.

DORELLA, F.A.; PACHECO, L.G.C.; OLIVEIRA, S.C.; et al. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. **Veterinary Research**, 37: 201-218, 2006.

EMPRESA BAIANA DE DESENVOLVIMENTO AGRÍCOLA (EBDA), 2000. Disponível em <http://www.seagri.ba.gov.br/ebda/abril-maio00mat-7.htm>. Acessado em 14/11/2013.

ELLIS, J. A., et al., Antigen specificity and activity of ovine antibodies induced by immunization with *Corynebacterium pseudotuberculosis* culture filtrate. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, n. 28, p. 303-316, 1991.

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

FICAPAL, A.; JORDANA, J.; BLASCO, J.M.; MORIYÓN, I. Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. **Small Ruminant Research**, v.29, p.13-19, 1998.

FIGUEIREDO, E.A.P.; SHELTON, M.; PANT, K.P. Goat skins. **Proceedings 3rd International Conference on Goat Production and Disease**. Tucson, Arizona, p. 488-490, 1982.

- GALL, D.; NIELSEN, K.; VIGLIOCCO, A.; SMITH, P.; PEREZ, B.; ROJAS, X.; ROBLES, C. Evaluation of an indirect enzyme-linked immunoassay for presumptive serodiagnosis of *Brucella ovis* in sheep. **Small Ruminant Research**, v.48, p.173–179, 2003.
- GUL, S. T.; KHAN, A. Epidemiology and epizootology of brucellosis: a review. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 27, n. 3, p. 145-151, 2007.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Pecuária Municipal**, Brasil, v.38, 2010.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pecuária 2011 - Rebanho ovino**. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 26 out. 2014.
- KUMAR, J.; TRIPATHI, B. N.; KUMAR, R.; SONAWANE, G. G.; DIXIT, S. K. Rapid detection of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in clinical samples from sheep. **Trop Anim Health Prod** (2013) 45:1429–1435
- LAN, D. T. B., *et al.* Complement receptor type 3 plays an important role in development of protective immunity to primary and secondary *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in mice. **Microbiol. Immunol.**, v. 43, p. 1103-1106, 1999.
- LEÓN, F. C. Influencia de los elementos y factores geográficos en la epidemiología de la brucelosis del ganado ovino y caprino. **Papeles de Geografía**, n.29, p. 189-209, 1994.
- LIMA, C. C. V.; COSTA, J. N.; SOUZA, T. S. ; MARTINEZ, P. ; COSTA NETO, A. O.; ANUNCIÇÃO, A. V. M.; ALMEIDA, M. G. Á. R.; ARAÚJO, B. R.; PINHEIRO, R.R. Inquérito soropidemiológico do lentivírus caprino e perfil das criações de caprinos na região do Baixo Médio São Francisco (BA). **Arquivos do Instituto Biológico** (Online), v. 80, p. 288-296, 2013.
- LIRA, N.S.C.; MEGID, J. Patogenia da Brucelose Ovina. **Veterinária e Zootecnia**, p. 280-289, v. 16, n. 2, Jun., 2009.
- LOFSTED, J. Distúrbios dos Sistemas Orgânicos. In: SMITH, B. P. **Medicina Interna de Grandes Animais**. p. 583-584, 2002.
- LUCAS, R. P.; SCARAMUCCI, C. P.; PEREIRA, L. Linfadenite caseosa em ovinos – Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano VII, n. 12, 2009.
- MADUREIRA, K. M.; PEIXOTO, T. C.; FERREIRA, M.M.; FREITAS, M. D.; VASCONCELOS, T.C. ; SANTANA, G.S.; ARAUJO, G.F.; SANTOS, A. C. A.; SILVA, D.N.; ALCANTARA, U. A. A. Orquite e epididimite em ovino causadas por *Brucella ovis*. **In: X Congresso Brasileiro de Buiatria, 2013**, Belém. X Congresso Brasileiro de Buiatria, 2013.
- MAFRA, P. Impacto da Brucelose no Ambiente e Saúde Pública: Estratégias de Controle em Zonas Endêmicas. **Curricular do Mestrado em Promoção/Educação para a Saúde**. Ciência da Natureza, 2003.

MAGALHÃES NETO, A.; GIL-TURNES, C. Brucelose ovina no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.16, n.2/3, p.75-79, 1996.

MARCO, J.; GONZALEZ, L.; CUERVO, L.A.; HEREDIA, F.B.; BARBERÁN, M.; MARÓN, C.; BLASCO, J.M. *Brucella ovis* infection in two flocks of sheep. **Veterinary Record**, v.13, p.254-256, 1994.

MARQUES, A.P.R. Caracterização soroepidemiológica da infecção por vírus *Maedi-Visna* e *Brucella ovis* em ovinos no estado de Minas Gerais. 2006. 79f. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)** – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MARTINS, Nekita Èvely Ximenes; ALMEIDA, Katyane de Sousa; BRITO, José Wilson Dias. Brucelose em ovinos: *Brucella ovis* e *Brucella abortus* – Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano X, n 19, 2012

MEYER, R.; CARMINATI, R.; CERQUEIRA, R.B.; VALE, V.; VIEGAS, S.; MARTINEZ, T.; NASCIMENTO, I.; SCAER, R.; SILVA, J.A.H.; RIBEIRO, M.; RÉGIS, M.; PAULE, B.; FREIRE, S. M. Avaliação da resposta imune humoral em caprinos inoculados com uma vacina viva atenuada liofilizada contra *Corynebacterium pseudotuberculosis*, **R. Ci. Méd. Biol.**, v. 1, n. 1, p. 42-48, nov.2002.

MEYER, R. *et al.* In vitro IFN-gamma production by goat blood cells after stimulation with somatic and secreted *Corynebacterium pseudotuberculosis* antigens. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 107, p. 249–254, 2005.

MOTTA R.G., CREMASCO A.C.M. & RIBEIRO M.G. 2010. Infecções por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em animais de produção. **Vet. Zootec.** 17:200-213.

MOURA-COSTA, L. F. *Corynebacterium pseudotuberculosis*, o agente etiológico da linfadenite caseosa em caprinos. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**. v. 1, n. 1, p. 105-115, 2002.

MOURA-COSTA, L. F.; BAHIA, R. C.; CARMINATI, R.; VALE, V. L. C.; PAULE, B. J. A.; PORTELA, R. W.; FREIRE, S. M.; NASCIMENTO, I.; SCHAER, R.; BARRETO, L. M. S.; MEYER, R. **Veterinary Immunology and Immunopathology** 126,p. 131–141, 2008.

NIELSEN, K.; SMITH, P.; YU, W.L.; et al. Detection of ovine antibody to *Brucella ovis* by indirect enzyme immunoassay. **J. Immunoassay e Immunochem.**, v.28, n.3, p. 243-250, 2007.

NOZAKI, C.N.; MEGID, J.; LIMA, K.C.; SILVA JUNIOR, F.F.; VELOSO, C.S. Comparação das técnicas de imunodifusão em gel de ágar e ELISA no diagnóstico de brucelose ovina em cabanhas da região centro-oeste do estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, n.1, p.1-5, 2004.

NOZAKI, C.N.; SALGADO, V.R.; LIRA, N.S.C.; AUGUSTO FILHO, O.; DASSO, M.G.; ANTUNES, J.M.A.P.; MEGID, J. Adaptation and evaluation of polymerase chain reaction for

Brucella ovis detection in semen, urine and organs of rams experimentally infected. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.63, n.6, p.1591-1594, 2011.

OIE (International Organization of Epizootics). Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals 2012. **Ovine Epidymitis (Brucella Ovis)**, v. 2, chapter 2.7.9. Disponível em http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.07.09_OVINE_EPID.pdf>, Acesso em 01 de maio de 2014.

PACHECO, L. G. C.; PENA, R. R.; CASTRO, T. L. P.; DORELLA, L. P.; BAHIA, R. C.; CARMINATI, R.; FROTA, M. N. L.; OLIVEIRA, S. C.; MEYER, R.; ALVES, F. S. F.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. Multiplex PCR assay for identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from pure cultures and for rapid detection of this pathogen in clinical samples. **Journal of Medical Microbiology**, n.56, p.480–486, 2007.

PAOLICCHI, F.; CIPOLLA, A.; VAGNONI, L.; COBO, E.; VAGNOZZI, A.; RAMONDINO, R.; SILVA PAULO, P.; VIGLIOCCO, A. Aislamiento de *Brucella ovis* del semen de carneros seropositivos a la prueba de ELISA y con clínica genital normal. **Revista Argentina de Microbiología**, v.31, n.1, p. 40-43, 1999.

PAOLICCHI, F.A.; CASARO, P.A.; GIMENO, E.J.; et al. Antisperm response in rams experimentally infected with *Brucella ovis*. **Small Rum. Res.**, v.36, p.7-15, 2000.

PASTOR, L. G.; BLASCO, J. M.; BARBERÁN, M. Pasteurellosis as a cause of genital lesions in rams. A descriptive study. **Small Ruminant Research**, v.87, p.111–115, 2009.

PATON, M. W.; ROSE, I. R.; HART, R. A.; SUTHERLAND, S. S.; MERCY, A. R.; ELLIS, T. M.; DHALIWAL, J. A. New infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* reduces wool production. **Australian Veterinary Journal**, v. 71, n. 2, p. 47.49, Fev. 1994.

PATON, M. W. Caseous lymphadenitis. The epidemiology of caseous lymphadenitis in Australia and observations on other production systems. **Proceedings of the Fourth International Congress for Sheep Veterinarians**, Armidale, NSW, Australia. p. 121-, Feb. 1997.

PATON, M. W.; WALKER, S. T.; ROSE, I. R.; WATT, G. T.; MERCY, A. R.; Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep flocks. **Australian Veterinary Journal**, v. 81, n. ½, p. 91.95, Jan./Fev. 2003.

PEPIN, M. *et al.* Cellular composition of *Corynebacterium pseudotuberculosis* pyogranulomas in sheep. **Journal of Leukocyte Biology**. v. 56, p. 666-670, 1994.

PESSEGUEIRO, P.; BARATA, C.; CORREIA, J. Brucelose: uma revisão sistematizada. **Medicina Interna**, v.10, n.2, p.91-100, 2003.

PINHEIRO, D. N. S. **Levantamento soropidemiológico da artrite encefalite caprina na região sisaleira e avaliação dos fatores de risco**. 2015.94fl. Dissertação (Mestrado Profissional em Defesa Agropecuária) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2015.

PINHEIRO JUNIOR, J.W.; OLIVEIRA, A.A.F.; MOTA, R.A.; AGOTTANI, J.V.; JESUS, E.M.; ASSIS, S.T.; OLIVEIRA, C.Z. Ocorrência de ovinos sororeatores para *Brucella ovis* no estado de Alagoas, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.3, p.500-508, 2009.

PINHEIRO JUNIOR, J. M.; SOUZA, M. M.A.; GUERRA, N. R.; SANTANA, V. L. A.; MOTA, R. A. Frequência de aglutininas anti-*brucella abortus* em caprinos e ovinos do sertão do estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1096-1101, out./dez. 2008.

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F.; HADDAD, J.P.A.; ANDRIOLI, A. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.5, p.534-543, 2000.

PUGH, D. G. Caseous Lymphadenitis. In: Sheep & Goat Medicine, **Saunders**, p. 207-208, 2005.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J. C.; LEONARD, F. C.; MAGUIRE, D. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**, Porto Alegre: Artmed, 2005.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J. C.; LEONARD, F. C.; MAGUIRE, D. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**, Porto Alegre: Artmed, 2005.

RADOSTITS, O.M.; MAYHEW, I.G.J.; HOUSTON, D.M. Exame clínico e diagnóstico em veterinária. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**. 1ed. 2002b. p.554-565.

RAMOS, A.A.; MIES FILHO, 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**, v.1, p.211-213, 1966.

REBOUÇAS, M. F.; LOUREIRO, D.; BASTOS, B. L.; MOURA-COSTA, L. F.; HANNA, S. A.; AZEVEDO, V.; MEYER, R.; PORTELA, R. W. Development of an indirect ELISA to detect *Corynebacterium pseudotuberculosis* specific antibodies in sheep employing T1 strain culture supernatant as antigen. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V.33(11), p.1296-1302, 2013.

REVIRIEGO, F.J.; MORENO, M.A.; DOMÍNGUEZ, L. Risk factors for brucellosis seroprevalence of sheep and goat flocks in Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v.44, p.167-173, 2000.

RIBEIRO, M. G.; DIAS JUNIOR, J. G.; PAES, A. C.; BARBOSA, P. G.; NARDI JÚNIOR, G.; LISTONI, F. J. P. Punção aspirativa com agulha fina no diagnóstico do *Corynebacterium pseudotuberculosis* na linfadenite caseosa caprina. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.68, n.1, p.23-28, jan./jun., 2001

RIBEIRO, D.; DORELLA, F. A.; PACHECO, L. G. C.; SEYFFERT, N.; DE PAULA CASTRO, T. L.; PORTELA, R. W. D.; MEYER, R.; MIYOSHI, A.; LUVIZOTTO, M.C.R.; AZEVEDO, V. Subclinical Diagnosis of Caseous Lymphadenitis Based on ELISA in Sheep from Brazil. **J. Bacteriol Parasitol**, v. 4:3, 2013.

RIET-CORRÊA F, SCHILD AL, MENDEZ MC, LEMOS RAA. Doenças de ruminantes e equinos. 2ª ed. São Paulo: **Varela**; 2004.

RIET-CORREA F., TABOSA I.M., AZEVEDO E.O., MEDEIROS R.M., SIMÕES S.V.D., DANTAS A.F., ALVES C.J., NOBRE V.M.T., ATHAYDE A.C., GOMES A.A.; LIMA E.F. Doenças dos ruminantes e equinos no semi-árido da Paraíba. **Semi-Árido em Foco**, Patos, 1:2-86, 2003.

RIZZO, H.; GREGORY, L.; PINHEIRO, E.S.; CARVALHO, A.F.; SANTANA, R.L.; SILVA, L.M.P. Incidência de *Brucella ovis* em ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos no estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, suplemento I, 2009.

RIZZO, H.; GREGORY, L.; BERARDI, F.; DE CARVALHO, A. F.; PINHEIRO, E. S.; PAULIN, L. M. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos no estado de São Paulo, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.81, n.2, p. 99-106, 2014.

ROBLES, C.A. Epididimitis contagiosa de los carneros por *Brucella ovis*. **Revista de Medicina Veterinária**, v.79, n.1, 1998a.

ROBLES, C.A.; UZAL, F.A.; OLAECHEA, F.V.; LOW, C. Epidemiological observations in a Corriedale flock affected by *Brucella ovis*. **Veterinary Research Communications**, v.22, n.7, p. 435-443, 1998b.

RUSSELL, M. Phage assembly: a paradigm for bacterial virulence factor export? **Science**. v. 265, p. 612-4, 8036510, 1994.

SANTIAGO, L. B.; ALVES, F.S.F.; PINHEIRO, R.R.; DOS SANTOS, V.W.S.; RODRIGUES, A.S.; CHAPAVAL, L.; DE BRITO, I.F.; DE SOUSA, F.G.C. Avaliação in vitro da sensibilidade da *Corynebacterium pseudotuberculosis* frente a diferentes tipos de antissépticos e desinfetantes e determinação de sua curva de crescimento. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77, n.4, p.593-600, 2010

SANTOS, F.A.; HIGINO, S.S.S.; AZEVEDO, S.S.; COSTA, D.F.; FARIAS, A.E.M.; ALVES F.A.L. Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em ovinos deslanados do semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.4, p.459-463, 2013.

SILVA, J.B.A.; FEIJO, F.M.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; SILVA, J.S. Prevalência de brucelose ovina causada por *Brucella ovis* em rebanhos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Animal**, v.13, n.1, p.51-54, 2003.

SILVA, N.S.; BARROS, I.N.; DASSO, M.G.; ALMEIDA, M.G.A.R.; LABORDA, S.S.; ANUNCIACÃO, A.V.M.; MOREIRA, E.L.T.; LIMA-SILVA, A.E.; OLIVEIRA, E.M.D. Detecção de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos do estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.4, p.852-859, 2009.

SOUZA, M. F.; CARVALHO, A. Q.; GARINO JUNIOR, F.; RIET-CORREA, F. Linfadenite caseosa em ovinos deslanados abatidos em um frigorífico da Paraíba. **Pesq. Vet. Bras.** 31(3):224-230, março 2011.

SOUZA, T.S; COSTA, J.N.; MARTINEZ, P.M.; LIMA, C.C.V.; ARAÚJO, B.R.; NETO, A.O.C.; ANUNCIACÃO, A.V.M.; ALMEIDA, M.G.A.R.; PINHEIRO, R.R. Inquérito soro-epidemiológico de *Brucella ovis* em rebanhos ovinos no semiárido baiano. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, n.4, Supl. 3, p.697-700, 2011, IX Congresso Brasileiro de Buiatria, Goiânia – Goiás, Brasil, out. 2011.

TAMAYO R., VALENTIN H.; SCHOEBITZ R. Determinación de anticuerpos a *Brucella ovis* en ovinos de la X Región de Chile. **Archive Medicine Veterinary**. n.1, p.22-28, 1989.

TORRES, E. D. N.; APARÍCIO, E. F.; QUEZADA, F. V.; TAVERA, F. T; GUEMES, F. C. Presencia de anticuerpos contra diferentes espécies de *Brucella* em sementales ovinos jóvenes. **Veterinaria México**, v. 28, n. 3, p. 241-245, 1997.

VIGLIOCCO, A.M.; SILVA PAULO, P.S.; MESTRE, J.; et al. Development and validation of the indirect enzyme immunoassay for the detection of ovine antibody to *Brucella ovis*. **Vet. Microbiol.**, v.54, p.357-368, 1997.

WALKER, R.L. *Brucella*. In: HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. Microbiologia Veterinária. **Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro, p.185-191, 2003.

WINDSOR P.A. Control of caseous lymphadenitis. **Vet Clin North Am Food Anim Pract**, v.27, p.193–202, 2011.

25 5. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Médico Veterinário do Centro de
26 Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da
27 Bahia.

28 6. Graduandos de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
29 Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

30 7. Professor do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Feira de Santana,
31 Feira de Santana, Bahia, Brasil.

32 *Endereço para correspondência: gabi_jones@hotmail.com

33

34

35 RESUMO

36

37 O objetivo desta pesquisa foi verificar a frequência de ovinos soropositivos para a brucelose
38 ovina, caracterizando o sistema de produção adotado no município de Pintadas no estado da
39 Bahia. O teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) foi utilizado para examinar 501
40 amostras de soro de 44 rebanhos. Foram aplicados questionários epidemiológicos para
41 pesquisar algumas características de manejo. Anticorpos para *B. ovis* foram detectados em
42 três (0,59%) dos animais investigados, não havendo, contudo, diferença estatística
43 significativa para a idade e sexo dos animais com a proporção soro-reagentes. Três
44 propriedades (6,8%) apresentaram animais soro-reagentes. Através da análise dos
45 questionários, foram identificadas 20 propriedades (45,4%) com problemas de abortos.
46 Acredita-se que o baixo número de animais positivos observado neste estudo tenha relação
47 com o baixo nível de tecnificação na região estudada. O município de Pintadas é caracterizada
48 pelo clima semiárido e pela predominância da criação do tipo extensiva, com baixa
49 produtividade e muitas vezes utilizada para alto subsistência.

50 **Palavras chave:** Brucelose ovina, IDGA, Sistema de produção.

51

52 **SUMMARY**

53

54 The objective of this research was to determine the frequency of seropositive sheep for ovine
55 brucellosis, featuring the production system adopted in Painted municipality in the state of
56 Bahia. The immunodiffusion test in agar gel (AGID) was used to examine 501 serum samples
57 from 44 herds. Being applied epidemiological questionnaires to find some management
58 features. Antibodies to *B. ovis* were found in three (0,59%) of the animals investigated, and
59 there is, however, a statistically significant difference for age and sex of animals with the
60 proportion of reactive. Three properties (6,8%) had positive animals. Through the analysis of
61 questionnaires, were identified 20 properties (45,4%) with abortion issues. It is believed that
62 the low number of positive animals observed in this study is related to the low level of
63 technology in the region studied. The municipality of Painted is characterized by semi-arid
64 climate and by the predominance of the creation of extensive type, with low productivity and
65 often used to high living.

66 **Keywords:** ovine brucellosis, AGID, production system.

67

68 **INTRODUÇÃO**

69

70 A infecção por *Brucella ovis*, conhecida como epididimite dos carneiros, é uma enfermidade
71 infecciosa crônica de caráter contagioso que acomete naturalmente de forma exclusiva à
72 espécie ovina, provocando diminuição da fertilidade dos carneiros, ocasionalmente
73 abortamento nas fêmeas e aumento da mortalidade perinatal. Desta forma compromete a
74 saúde reprodutiva que é de vital importância para a produção e a produtividade dos rebanhos

75 (COLETO et al., 2003, SILVA et al., 2009, CARVALHO JUNIOR et al., 2010; SOUZA et
76 al., 2012).

77 No Brasil, trabalhos recentes demonstram a ocorrência da doença em vários estados como:
78 Distrito Federal, Maranhão, Minas Gerais, Pernambuco, Santa Catarina, São Paulo e Rio
79 Grande do Sul (CARVALHO JUNIOR et al., 2010). No Rio Grande do Sul foi relatado o
80 primeiro diagnóstico por Ramos et al. (1966) e em 1996, Magalhães Neto & Gil-Turnes,
81 determinaram uma prevalência de 13,43% através da Imunodifusão em Gel de Ágar.

82 No Nordeste a doença tem sido observada em vários estados. No Rio Grande do Norte a
83 enfermidade foi diagnosticada em 13 municípios dos 14 estudados, confirmando a infecção
84 por *B. ovis* na região, afetando ovinos de ambos os sexos, adultos e jovens e de diferentes
85 raças. (SILVA et al., 2003; AZEVEDO et al., 2004). Na Bahia, utilizando o teste sorológico
86 de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA), Silva et al. (2009), determinaram uma prevalência
87 de 3,28% na região do Recôncavo. Souza et al. (2012), testando soros de ovinos na
88 Microrregião de Juazeiro-Ba, obtiveram uma prevalência de 0,72% e Araújo et al. (2013), na
89 Microrregião de Feira de Santana-Ba, relataram uma prevalência de 6,94% através do IDGA.

90 A *Brucella ovis* provoca nos machos um processo inflamatório com formação de granulomas
91 espermáticos e conseqüentemente uma redução na fertilidade (ROBLES et al.,1998b;
92 PAOLICCHI; CASARO & GIMENO, 2000; SILVA et al., 2003; SILVA et al., 2009).
93 Embora não seja considerada uma zoonose, a brucelose ovina provoca conseqüências
94 devastadoras na economia, com a substituição de animais com baixa fertilidade, perda de
95 animais com alto valor genético, além de gastos com exames do rebanho para detectar e
96 eliminar a doença na propriedade (GALL et al., 2003).

97 Para o diagnóstico da brucelose ovina, a técnica de IDGA foi descrita e utilizada pela primeira
98 vez no Brasil por Ramos et al., (1966) no qual 6,5% dos soros testados foram reagentes ao
99 teste. A prevalência da infecção por *B. ovis* é variável em diversas partes do mundo e

100 depende, também, do método e/ou da prova diagnóstica utilizada, variando de 2,4% a 26%
101 dos carneiros examinados nos trabalhos realizados em outros países (TAMAYO;
102 VALENTIN; SCHUZBITZ, 1989; TORRES et al., 1997).

103

104 MATERIAL E MÉTODOS

105 Este levantamento foi realizado no município de Pintadas – Bahia, pertencente à Mesorregião
106 Centro - Norte Baiano, que possui uma área total de 546 Km² (IBGE, 2011). Para o presente
107 trabalho, foram escolhidas aleatoriamente 44 propriedades das 472 existentes, totalizando 501
108 animais coletados em um rebanho de 12.500 cabeças (BAHIA, 2012).

109

110 **Figura 3:** Mapa demonstrativo da Região Metropolitana de Feira de Santana-Ba, com destaque o município de
111 Pintadas, visitado nesse estudo.

112

113

114

115

116

117

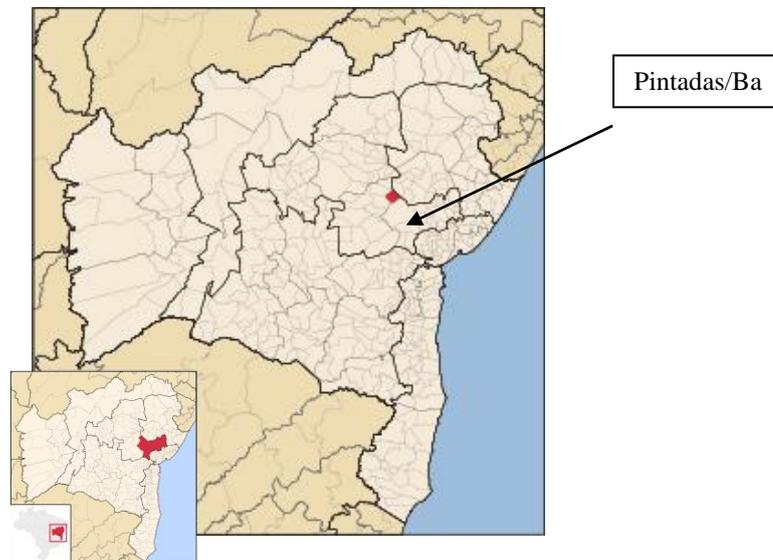
118

119

120 Fonte: Bahia, 2012

121

122 O número mínimo de amostras foi calculado segundo Thrusfield (2004), com nível de
123 confiança de 95% e precisão absoluta desejada de 5%. Com a utilização do programa EPIInfo
124 3.5.4 foi possível determinar o N amostral, calculado baseando-se na prevalência de 18,57%
125 (ARAUJO et al., 2013), resultando em 250 amostras mínimas. Entretanto foram coletadas



126 amostras a mais de animais, em cada propriedade visitada, como prevenção de perdas. As
127 coletas foram realizadas no período de abril de 2013 a abril de 2014, totalizando 501
128 amostras, sorteadas de forma aleatória, nas 44 propriedades selecionadas.
129 O número de amostras coletadas em cada propriedade foi calculado de maneira proporcional
130 pelo número total de animais (Tabela 2).
131

Tabela 2: Número de amostras mínimas a serem testadas para *Brucella ovis* por propriedade no município de Pintadas - Bahia

Propriedade	Nº de animais	Nº de amostras colhidas	Percentual de participação (%)
I	18	8	44,44444444
II	18	12	66,66666667
III	20	10	50
IV	19	7	36,84210526
V	25	10	40
VI	9	3	33,33333333
VII	25	13	52
VIII	14	11	78,57142857
IX	30	6	20
X	22	10	45,45454545
XI	20	10	50
XII	100	16	16
XIII	147	17	11,56462585
XIV	41	12	29,26829268
XV	15	7	46,66666667
XVI	64	12	18,75
XVII	29	12	41,37931034
XVIII	50	13	26
XIX	28	13	46,42857143
XX	29	13	44,82758621
XXI	45	13	28,88888889
XXII	13	6	46,15384615
XXIII	96	13	13,54166667
XXIV	28	13	46,42857143
XXV	12	8	66,66666667
XXVI	25	10	40
XXVII	20	12	60
XXVIII	20	13	65
XXIX	50	13	26
XXX	73	13	17,80821918
XXXI	94	13	13,82978723

XXXII	141	13	9,219858156
XXXIII	19	12	63,15789474
XXXIV	43	13	30,23255814
XXXV	28	13	46,42857143
XXXVI	38	13	34,21052632
XXXVII	12	8	66,66666667
XXXVIII	17	10	58,82352941
XXXIX	47	13	27,65957447
XL	66	13	19,6969697
XLI	20	13	65
XLII	19	13	68,42105263
XLIII	350	13	3,714285714
XLIV	39	12	30,76923077
<hr/>			
TOTAL			24,58292444

132

133 A cada propriedade visitada, foi aplicado um questionário abordando dados do criador, da
134 fazenda e aspectos gerais do rebanho (sistemas de criação, tipo de exploração,
135 acompanhamento técnico, espécies animais, presença de aprisco, participação em exposições,
136 origem do rebanho), além disso, informações acerca do manejo nutricional, reprodutivo
137 (origem dos reprodutores, realização de exame andrológico, tipo de reprodução e uso de
138 rufião) e sanitário (realização de quarentena, vacinação, vermifugação, cura de umbigo, banco
139 de colostro e piquete maternidade), além das principais enfermidades e alterações clínicas
140 mais frequentes no rebanho, objetivando-se correlacionar diferentes variáveis acerca do nível
141 tecnológico, sanidade, nutrição, reprodução e aspectos zootécnicos com a soropositividade
142 observada (anexo 1).

143 Foi realizado nos animais o exame clínico adequado, que consistiu de exame físico geral e
144 específico do aparelho genital de acordo com critérios recomendados por Rosenberger et al.
145 (1989) e Belknap et al. (2004), com atenção especial para o escroto e os testículos a fim de
146 investigar possíveis deformidades. Foram avaliados animais selecionados aleatoriamente
147 através de exame clínico buscando-se sinais característicos da brucelose ovina. Dessa forma,
148 foram colhidas amostras de sangue para exames laboratoriais, de machos e fêmeas sem

149 distinção de raça com idade mínima de um ano, selecionados de acordo com a primeira muda
150 da arcada dentária (BELKNAP et al. 2004)

151 Após anamnese e exame físico completo dos animais, realizou-se anti-sepsia adequada e foi
152 coletado cinco mililitros de sangue mediante punção da veia jugular para obtenção de soro.
153 Foram utilizados tubos a vácuo, sem o anticoagulante, sendo transportados ao laboratório em
154 caixas térmicas resfriadas. O processamento total do sangue foi realizado em um período
155 inferior a 12 horas; isto é, no mesmo dia após a coleta. Os tubos foram mantidos em
156 temperatura ambiente por uma hora para retração do coágulo e depois centrifugados a 1.500g
157 por dez minutos para obtenção do soro que eram acondicionados em tubos tipo eppendorf,
158 devidamente identificados com a numeração do animal e mantidos à temperatura de 20°C até
159 a realização dos testes de diagnóstico.

160 Os testes sorológicos foram realizados no Laboratório de Doenças Infecciosas – NEDI/LDI da
161 UFRB. A análise sorológica utilizada neste trabalho, para detecção de anticorpos anti-*B. ovis*
162 foi o método de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), através do Kit produzido pelo Instituto
163 de Tecnologia do Paraná (TECPAR), utilizando-se gel de Agarose, com metodologia
164 conduzida segundo as recomendações do fabricante (LGC Biotecnologia). O antígeno
165 consiste de proteínas e lipopolissacarídeos solúveis, extraídos da bactéria *B. ovis*, amostra Reo
166 198. O gel de agarose foi preparado em tampão borato e distribuído em placas de petri
167 90x15mm (13mL por placa). Após a solidificação do gel em temperatura ambiente, as placas
168 foram acondicionadas em refrigerador por um período de 12 horas. Posteriormente, o gel foi
169 perfurado com roseta metálica em formato hexagonal de sete poços, sendo um central para ser
170 preenchido com o antígeno (25uL) e seis periféricos, para alocação dos soros controle
171 positivo e soros teste (25uL). Após este procedimento, as placas foram acondicionadas em
172 câmaras úmidas à temperatura de 25°C. A leitura foi realizada após 48 horas, utilizando como
173 auxílio o contador de colônias com fundo escuro e luz direta.

174 O teste foi interpretado baseando-se na observação da formação de uma linha de precipitação
175 nítida entre o soro teste e o antígeno, classificando as amostras em positivas ou negativas. O
176 soro reagente apresentou linha de precipitação revelando continuidade com a linha formada
177 pelo soro padrão (linha de identidade), já o soro negativo ou não reagente, não apresentou a
178 linha de precipitação entre o soro teste e o antígeno (Figura 4).

179

180

181 **Figura 4:** Linha de precipitação sinalizando que o soro testado no poço foi reagente.

182

183

184

185

186

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200

201

Fonte: Araujo, 2012

202

203

204

205

206

Para a avaliação da caracterização do sistema de produção da brucelose ovina por *B. ovis*, foi realizada uma análise estatística univariada e multivariada dos dados. Os cálculos foram feitos com o programa BioEstat 5.0 no Excel (THRUSFIELD, 2004).

205

206

207 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

208 Através da técnica de IDGA na pesquisa de anticorpos contra *B. ovis*, foi possível detectar 3
209 animais reagentes o que representa 0,59% (3/501). Das 44 propriedades visitadas, no
210 município trabalhado, houve três (6,8%) (03/44) com amostras positivas (Tabela 3).

211 **Tabela 3:** Soro prevalência de ovinos testados por imunodifusão em gel de ágar para *Brucella ovis* no
município de Pintadas – Bahia

	N animais	%	N prop.	%
Positivos	03	0,59	03	6,8
Negativos	498	99,4	41	93,2
Total	501	100	44	100

213
214 Ao comparar estudos realizados anteriormente na Bahia por Souza et al., (2011) e Araújo et
215 al., (2013), aos resultados obtidos neste trabalho, verifica-se que a infecção por *Brucella ovis*
216 ainda está presente no rebanho ovino do estado, sendo necessária a adoção de medidas
217 sanitárias rigorosas para evitar a propagação da doença nos rebanhos.

218 Trabalhos semelhantes como o de Marinho e Mathias (1996) em São Paulo, Schäfer et al.
219 (1997) em Santa Catarina e Salaberry et al., (2011) em Uberlândia-MG não detectaram ovinos
220 reagentes ao teste de IDGA. Rizzo et al. (2014) no estado de São Paulo utilizando uma
221 técnica com maior especificidade, a fixação de complemento, obtiveram uma prevalência de
222 1,7%.

223 No entanto, resultados diferentes aos observados neste inquérito, foram determinados 30
224 animais positivos (7,81%) em um total de 384 amostras em 32 propriedades no estado do
225 Piauí (BATISTA et al. 2011). Coletto et al., 2003, determinaram uma soropositividade em 26
226 (16,25%) dos 160 animais analisados em Pernambuco.

227 Na avaliação geral dos questionários aplicados, foi verificado que 100% (44/44) dos
228 proprietários, residiam no local da criação. E um número também bastante elevado quando se
229 referia em divisão de pastagem, suplementação, mineralização, existência de aprisco ou curral
230 e acompanhamento técnico onde os valores estão representados na tabela 4. Já em relação às
231 espécies de criação, apenas 15,9% das propriedades possuíam criação unicamente de ovinos,
232 onde 84% (37/44) criavam outras espécies em consórcio com a ovinocultura, como bovinos,
233 caprinos, equinos e/ou aves.

234

Tabela 4: Características gerais das propriedades visitadas no município de Pintadas - Bahia

CARACTERÍSTICA		PROPRIEDADES		
		N	%	IC* (%)
Mora na propriedade	Sim	44	100
	Não	0	0
Divisão de pastagem	Sim	38	86,363636	76.2-96.5
	Não	6	13,636364	3.5-23.8
Suplementação	Sim	36	81,818182	70.4-93.2
	Não	8	18,181818	6.8-29.6
Mineralização	Sim	38	86,363636	76.2-96.5
	Não	6	13,636364	3.5-23.8
Aprisco	Sim	0	0
	Não	44	100
Acompanhamento técnico	Sim	29	65,909091	51.9-79.9
	Não	15	34,090909	20.1-48.1
Animais criados	Apenas ovinos	7	15,909091	5.1-26.7
	Outras espécies	37	84,090909	73.3-98.3

*IC= Intervalo com 95% de confiança para a proporção

235

236

237 Foi observado que, dos 501 ovinos testados pela prova de IDGA para pesquisa de anticorpos
238 anti-*Brucella ovis*, todos os animais positivos eram fêmeas e nenhum macho foi detectado
239 (Tabela 5). Analisando-se uma possível associação entre a frequência de animais soro-
240 reagentes para *B. ovis* e o sexo, não houve significância estatística. No entanto, Tamayo,
241 Valentin & Schoebitz, 1989), afirmaram que os machos são mais susceptíveis que as fêmeas.

242 Entretanto, trabalhos realizados por Rizzo et al. (2009), Souza (2011) e Araújo (2012),
243 demonstraram resultados semelhantes aos nossos, quando observou-se que a prevalência maior
244 entre as fêmeas, com resultados de 4, 4 e 7 ovelhas positivas respectivamente, pela prova de
245 IDGA para pesquisa de anticorpos anti- *Brucella ovis*.

246

Tabela 5: Frequência de ovinos soro reagentes no IDGA à *Brucella ovis*, segundo o sexo, no Município de Pintadas – Bahia

SEXO	IDGA ¹	
	ANIMAIS REAGENTES (%)	TOTAL (%)
MACHO	0 (0)	61 (12,2)
FÊMEA	3 (0,7)	440 (87,8)
TOTAL	3 (0,6)	501 (100)

¹ Imunodifusão em gel de ágar

P>0,05

247

248 Neste estudo, observou-se que 88,63 % (39/44) das propriedades visitadas adotaram o sistema
249 de criação semi-extensivo; 11,36% (5/44) o sistema extensivo e não foram observadas
250 propriedades utilizando o sistema intensivo e que a população de ovinos vem decaindo desde
251 o último estudo realizado na região por Araújo e colaboradores em 2013, onde 79,5% das
252 propriedades possuem menos de 50 cabeças de ovinos e que mais de 90% desses animais são
253 adquiridos ou passam por algum tipo de comercialização entre propriedades vizinhas,
254 demonstrando que essa exploração veio sofrendo com a crise da escassez de água e
255 consequentemente falta de alimentação para estes animais, tornando cada vez mais uma
256 criação de subsistência (Tabela 6).

257

258

259

260

261

262

263

264

Tabela 6: Características dos rebanhos pertencentes às 44 propriedades visitadas no município de Pintadas - Bahia

CARACTERÍSTICA		PROPRIEDADES		
		N	%	IC* (%)
Identificação do rebanho	Sim	9	20,454545	8.5-32.4
	Não	35	79,545455	67.6-91.5
Total de animais	Até 50 animais	35	79,545455	67.6-91.5
	Mais de 50 animais	9	20,454545	8.5-32.4
Tipo de exploração	Carne	44	100
	Genética	0	0
Sistema de criação	Semi-extensivo	39	88,636364	79.2-98.1
	Extensivo	5	11,363636	1.9-20.8
	intensivo	0	0
Origem dos animais	Do município	41	93,181818	85.7-100
	Outro Município	3	6,8181818	0.0-14.34
Participa de exposições	Sim	0	0
	Não	44	100
Atestado sanitário na compra de animais	Sim	0	0
	Não	44	100

*IC= Intervalo com 95% de confiança para a proporção

265

266

CONCLUSÃO

267 A frequência de animais soropositivos para *B. ovis* no Município de Pintadas foi baixa,
268 comparada ao estudo executado anteriormente na região. Entretanto, isso ocorreu devido à
269 modificação do modo de criação dos pequenos produtores, com menos aquisições em função
270 do longo período de estiagem o que minimizou as possibilidades de introdução do agente e
271 não pela adoção de medidas de prevenção. Contudo, o contingente expressivo de animais não
272 acompanha o nível de tecnificação que ainda está restrito a poucos produtores. Logo,
273 propostas para a adequação sanitária desses sistemas de criação devem ser pesquisadas e
274 aplicadas, através da consorciação da pesquisa e extensão, de forma a evitar a propagação de
275 agentes infecciosos, tal como *Brucella ovis*.

276

277

278 **REFERÊNCIAS**

279

280 ARAÚJO, B.B. Inquérito Soroepidemiológico da *Brucella ovis* em Rebanhos Ovinos da
281 Microrregião de Feira de Santana- Bahia e Caracterização dos Sistemas de Produção. 2012
282 .95fl. **Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos)**. Escola de Medicina
283 Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

284 ARAÚJO, B.R.; COSTA, J.N.; SOUZA, T.S.; LIMA, C.C.V.; LEITE, M.D.X.; COSTA
285 NETO, A.O.; ANUNCIACÃO, A.V.M.; ALMEIDA, M.G.A.R.; LIMA, E.B.
286 Seroepidemiology of sheep brucellosis in the microregion of Feira de Santana, BA, Brazil.
287 **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.50, n.2, p.129-135, 2013.

288

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

293

294 BAHIA. Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia. **Municípios por**
295 **região – Bahia. 2012**. Disponível em: <[http://www.sei.ba.gov.br/side/frame_tabela.wsp](http://www.sei.ba.gov.br/side/frame_tabela.wsp?tmp.tabela=t3&tmp.volta=*)
296 ?tmp.tabela=t3&tmp.volta=*> Acesso em 05 jan. 2014.

297

298 BATISTA, H.M.F.; ANDRIOLI, A.; PINHEIRO, R.R.; ALVES, F.S.F.; SANTIAGO, L.B.
299 Ocorrência de ovinos soropositivos para *Brucella ovis* nos rebanhos do Estado do Ceará. In:
300 **Encontro de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Estadual Vale do Acaraú**, 6,
301 2011, Sobral, CE. Resumos. Sobral: 2011.

302

303 BELKNAP, E.B. Enfermidades do Sistema Respiratório. In: PUGH, D.G. **Clinica de Ovinos**
304 **e Caprinos**. São Paulo: ROCA, p. 141, 2004.

305

306 CARVALHO JÚNIOR CA, XAVIER MN, COSTA LF, SILVEIRA SS, SANT'ANNA FM,
307 BORGES AM, GOUVEIA AMG, SANTOS RL: Agentes infecciosos que podem promover
308 infertilidade em machos da espécie ovina [Infectious agents that can cause
309 infertility in rams]. **Rev Bras Reprod Anim** 2010, 34:160–167. In Portuguese.
310 Abstract in English.

311

312 COLETO, Z.F.; PINHEIRO JUNIOR, J.W.; MOTA, R.A.; GUERRA, M.M.P.;
313 SIMPLÍCIO, K.M.M.G.; CÂMARA, D.R.; SOARES, R.P.T.; PORTO, W.J.N.;
314 CINTRA JUNIOR, J.E.; FAUSTINO, M.G.; SOUZA, A.F.; BERTO, R.S. Ocorrência
315 de infecção por *Brucella ovis* em ovinos do Estado de Pernambuco e sua participação
316 em distúrbios reprodutivos nesta espécie (estudos preliminares). **Revista Brasileira de**
317 **Reprodução Animal**, v.27, n.3, p.551-552, 2003.

318

319 GALL, D.; NIELSEN, K.; VIGLIOCCO, A.; SMITH, P.; PEREZ, B.; ROJAS, X.; ROBLES,
320 C. Evaluation of an indirect enzyme-linked immunoassay for presumptive serodiagnosis of
321 *Brucella ovis* in sheep. **Small Ruminant Research**, v.48, p.173–179, 2003.

322

323 IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pecuária 2011 - Rebanho ovino**.
324 Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 26 out. 2014.

- 325
326 MARINHO, M.; MATHIAS, L.A. Pesquisa de anticorpos contra *Brucella ovis* em ovinos do
327 estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.16, n.2/3, p.45-48, 1996.
328
329 MAGALHÃES NETO, A.; GIL-TURNES, C. Brucelose ovina no Rio Grande do Sul.
330 **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.16, n.2/3, p.75-79, 1996.
331 PAOLICCHI, F.A.; CASARO, P.A.; GIMENO, E.J.; et al. Antisperm response in
332 rams experimentally infected with *Brucella ovis*. **Small Rum. Res.**, v.36, p.7-15, 2000.
333
334 RAMOS, A.A.; MIES FILHO, A.; SCHENCK, J.A.P.; VASCONCELLOS, L.D.; PRADO,
335 O.T.G.; FERNANDES, J.C.T.; BLOBEL, H. Epididimite ovina. Levantamento clínico no Rio
336 Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.1, p.211-213, 1966.
337
338 RIZZO, H.; GREGORY, L.; BERARDI, F.; DE CARVALHO, A. F.; PINHEIRO, E. S.;
339 PAULIN, L. M. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos com histórico de
340 distúrbios reprodutivos no estado de São Paulo, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.81, n.2,
341 p. 99-106, 2014.
342
343 RIZZO, H.; GREGORY, L.; PINHEIRO, E.S.; CARVALHO, A.F.; SANTANA, R.L.;
344 SILVA, L.M.P. Incidência de *Brucella ovis* em ovinos com histórico de distúrbios
345 reprodutivos no estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, suplemento I, 2009.
346
347 ROBLES, C.A.; UZAL, F.A.; OLAECHEA, F.V.; LOW, C. Epidemiological
348 observations in a Corriedale flock affected by *Brucella ovis*. **Veterinary Research**
349 **Communications**, v.22, n.7, p. 435-443, 1998b.
350
351 ROSENBERGER, G. Exame clínico dos bovinos. 3. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara**, 1989.
352
353 SALABERRY, S.R.S.; PAULIN, L.M.; SANTANA, R.L.; CASTRO, J.R.; LIMARIBEIRO,
354 A.M.C. Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella abortus* e anti-*Brucella ovis* em ovinos no
355 município de Uberlândia, MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**,
356 v.63, n.4,p.1022-1024,2011.
357
358 SCHAFER, I.; VAZ,A.; RAMELLA, J.; COUTINHO, G. Prevalência de carneiros reagentes
359 à prova de imunodifusão em gel para *Brucella ovis* no Município de Lages- SC. **A Hora**
360 **Veterinária**, Ano 17, V.11, 1997.

361 SOUZA, T.S. Inquérito Epidemiológico Para Detecção De Anticorpos contra o Vírus da
362 Língua Azul e *Brucella ovis* em rebanhos ovinos da Microrregião De Juazeiro - Bahia
363 2011.126fl. **Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos)**. Escola de Medicina
364 Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

365 SOUZA, T.S.; COSTA, J.N.; MARTINEZ, P.M.; LIMA, C.C.V.; ARAÚJO, B.R.; COSTA
366 NETO, A.O.; ANUNCIACÃO, A.V.M.; ALMEIDA, M.G.A.R.; PINHEIRO, R.R. Inquérito
367 soro-epidemiológico de *Brucella ovis* em rebanhos ovinos no semiárido baiano. *Arquivos do*
368 *Instituto Biológico*, v.79, n.2, p.277-281, 2012.
369
370 SILVA, J.B.A.; FEIJO, F.M.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; SILVA, J.S. Prevalência de brucelose
371 ovina causada por *Brucella ovis* em rebanhos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil.
372 **Ciência Animal**, v.13, n.1, p.51-54, 2003.

373
374
375
376
377
378
379
380
381
382
383
384
385
386
387
388
389
390
391
392
393

SILVA, N.S.; BARROS, I.N.; DASSO, M.G.; ALMEIDA, M.G.A.R.; LABORDA, S.S.; ANUNCIACÃO, A.V.M.; MOREIRA, E.L.T.; LIMA-SILVA, A.E.; OLIVEIRA, E.M.D. Detecção de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos do estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.4, p.852-859, 2009.

SOUZA, M. F.; CARVALHO, A. Q.; GARINO JUNIOR, F.; RIET-CORREA, F. Linfadenite caseosa em ovinos deslanados abatidos em um frigorífico da Paraíba. **Pesq. Vet. Bras.** 31(3):224-230, março 2011.

TAMAYO R., VALENTIN H.; SCHOEBITZ R. Determinación de anticuerpos a *Brucella ovis* en ovinos de la X Región de Chile. **Archive Medicine Veterinary**. n.1, p.22-28, 1989.

TORRES, E. D. N.; APARÍCIO, E. F.; QUEZADA, F. V.; TAVERA, F. T; GUEMES, F. C. Presencia de anticuerpos contra diferentes espécies de *Brucella* em sementales ovinos jóvenes. **Veterinaria México**, v. 28, n. 3, p. 241-245, 1997.

THRUSFIELD, M.V. Inquéritos. In: *Epidemiologia Veterinária*. 2ed. São Paulo: **Roca**. 2004. p.223-247.

394

6. ARTIGO CIENTÍFICO II

Diagnóstico da Linfadenite caseosa através do ELISA indireto em rebanhos de ovinos no Município de Pintadas - Bahia **Diagnosis of caseous lymphadenitis through the indirect ELISA in sheep herds in the city of Pintadas – Bahia**

SANTANA, Gabriela dos Santos¹; COSTA, Joselito Nunes²; CERQUEIRA, Robson Bahia³; SOUZA, Bruno Cardoso⁴ ALVES, Juliana Lira Gama Pires⁵; DE MATOS, Évellin Caroline Araújo⁵; VIEIRA, Vinícius Pereira⁵; COSTA NETO, Antônio Oliveira⁶

1. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Mestrado em Defesa Agropecuária, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.
2. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, professor associado do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.
3. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, professor adjunto do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.
4. Médico Veterinário autônomo, Salvador, Bahia, Brasil.
5. Graduandos de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.
6. Professor do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

RESUMO

A Linfadenite Caseosa – LC, pseudotuberculose, ou mal do caroço dos caprinos e ovinos, é uma doença infecto-contagiosa crônica, que tem como agente causador o *Corynebacterium pseudotuberculosis*, caracterizada pela abscedação em linfonodos, tanto superficiais quanto internos, o que leva à lesão em órgãos e debilidade progressiva do animal, acarretando em diminuição da produção de leite, perda de peso e condenação de carcaça. No nordeste do Brasil há uma predominância da enfermidade em caprinos, certamente por se tratar de uma região onde a caprinocultura tem sido utilizada como

forma de subsistência para pequenos produtores e pelo hábito de alimentar-se em matas fechadas, onde espinhos podem predispor lesões no local acometido. O estudo de animais reagente foi verificado pela técnica do Elisa indireto, se obteve resultados de 82,73% e 88,63% para animais positivos e propriedades positivas respectivamente.

Palavras chave: Linfadenite caseosa, sororeagentes, ELISA indireto.

SUMMARY

He Caseous Lymphadenitis - LC, pseudotuberculosis, or evil lump of goat and sheep, is an infectious chronic disease, whose causative agent *Corynebacteripseudotuberculosis* the characterized by abscessation in lymph nodes, both surface and internal, which leads to injury in organs and progressive weakness of the animal, resulting in decreased milk production, weight loss and carcass condemnation. In northeastern Brazil there is a predominance of the disease in goats, certainly because it is a region where the goat has been used as a means of livelihood for small farmers and the habit of feeding in dense forests where thorns may predispose injuries on site affected. The study reagent animals was verified by Elisa technique indirect result was obtained 82,73% and 88,63% for positive animals and positive properties respectively.

Keywords: caseous lymphadenitis, reactive serum, indirect ELISA.

Correspondência para:

Gabriela dos Santos Santana
Rua Milão, 1108 – Brasília
CEP: 44088-612, Feira de Santana, Ba, Brasil
e-mail: gabi_jones@hotmail.com

Recebido:

Aprovado:

INTRODUÇÃO

A linfadenite caseosa (LC) mais conhecida como mal do carço ou pseudotuberculose que acomete populações de pequenos ruminantes em todo o mundo é uma doença infecto-

contagiosa causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*. O agente é eliminado por secreção purulenta de linfonodos com granuloma, que contamina o ambiente e outros animais (COLLETT et al., 1994; MEYER et al, 2005; DORELLA et al., 2006; ZERBINATI et al., 2007).

A enfermidade é de considerável importância na economia da ovinocaprinocultura sendo importante em vários países, particularmente nos

países em que a caprino e ovinocultura são importantes como fontes de subsistência e renda para pecuaristas. Ocorre no Brasil elevada incidência de linfadenite caseosa nos rebanhos, onde os prejuízos são consideráveis. Animais com suspeita de granulomas não devem ser adquiridos, e a realização da necropsia deverá ser efetuada por médico veterinário por se tratar de material altamente infectante (PATON et al., 1994; LUCAS et al., 2009).

Os estados do nordeste do Brasil, principalmente a Bahia, são os que apresentam relatos de maior frequência de Linfadenite Caseosa em decorrência da grande concentração desses animais, 93% da população de caprinos e 59% da população ovinos, do tipo de vegetação que contém espinhos e do baixo grau de instrução dos criadores, entretanto a quantificação das perdas econômicas é difícil de ser verificada (EBDA, 2000; MOURA-COSTA, 2002; IBGE, 2010).

MATERIAL E MÉTODOS

Este levantamento foi realizado no município de Pintadas – Bahia, pertencente à Mesorregião Centro - Norte Baiano, que possui uma área total de 546 Km² (IBGE, 2011). As coletas foram realizadas no período de abril de

O ELISA indireto é o teste mais utilizado na pesquisa de anticorpos contra proteínas secretada por *C. pseudotuberculosis* (RIBEIRO et al., 2013). Dercksen et al. (2000) relataram que o teste de ELISA indireto apresenta boa sensibilidade para a detecção de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em ovinos infectados. O objetivo deste trabalho foi diagnosticar através do ELISA indireto, a Linfadenite caseosa em ovinos do município de Pintadas-Bahia, doença apontada pelos produtores como uma das maiores causadoras de prejuízos econômicos, com queda na produção, perda do couro e condenação de carcaças.

2013 a abril de 2014, totalizando 498 amostras, sorteadas de forma aleatória, nas 44 propriedades selecionadas.

Após anamnese e exame físico completo dos animais, realizou-se anti-sepsia adequada e foi coletado cinco mililitros de sangue mediante

punção da veia jugular para obtenção de soro. Foram utilizados tubos a vácuo, sem o anticoagulante, sendo transportados ao laboratório em caixas térmicas resfriadas. O processamento total do sangue foi realizado em um período inferior a 12 horas; isto é, no mesmo dia após a coleta. Os tubos foram mantidos em temperatura

Banco de soros

Os soros controle utilizados para o teste, foram amostras de animais comprovadamente testados como positivos e negativos para *C. pseudotuberculosis*, oriundos do Banco de Soros do Laboratório de Doenças Infecciosas NEDI/LDI da UFRB. Entretanto as amostras de soros para análise foram de ovinos, sem raça definida, pertencentes aos criadores do interior do Estado da Bahia, região de Pintadas, que também fizeram parte do experimento de *Brucella ovis*.

ambiente por uma hora para retração do coágulo e depois centrifugados a 1.500g por dez minutos para obtenção do soro que eram acondicionados em tubos tipo eppendorf, devidamente identificados com a numeração do animal e mantidos à temperatura de -20°C até a realização dos testes de diagnóstico.

Protocolo do teste de ELISA indireto

Nos soros dos 498 ovinos, o teste de ELISA indireto foi realizado baseando-se na identificação de imunoglobulinas totais específicas contra antígenos secretados de cultura de 48 horas de *C. pseudotuberculosis*. O protocolo do ELISA indireto foi realizado segundo Carminati et al. (2003), modificado para a espécie ovina. As placas de poliestireno de fundo chato (marca COSTAR) foram sensibilizadas com 100 µl da diluição da cultura de *C. pseudotuberculosis* diluído a 1:100, em tampão carbonato bicarbonato a 0,05M, pH 9,6, incubadas a 7°C por 18 horas em câmara úmida. Após duas lavagens com PBS com 0,1% de Tween 20, as placas foram bloqueadas 200 µl/poço de PBS-T20 e 5% de leite desnatado (MOLICO®), incubadas por 2 horas a 37°C em câmara úmida. A seguir, foram

incubadas com 50 µl/poço em duplicada dos soros teste diluídos a 1:100 em PBS-T20 contendo 1% de leite desnatado (MOLICO®) durante 1 hora a 37°C em câmara úmida. Após cinco lavagens em PBS-T20, adicionaram-se às placas 50 µl/poço o conjugado e incubadas a 37°C por 1 hora. Em seguida foram novamente lavadas cinco vezes com PBS-T20 e adicionadas 50 µl/poço da solução reveladora (10mL de tampão cítrico + 400 µg de ortofenilenodiamina + 30 µl de H₂O₂ a 3%. As placas foram incubadas por 15 minutos em temperatura ambiente, ao abrigo da luz. Por fim, a reação foi interrompida acrescentando-se 25 µl de H₂SO₄4N. A leitura foi realizada em

leitor de ELISA (Microplate Reader BIO-RAD Model 550), usando-se filtro de 490 nm de comprimento de luz.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho a prevalência de Linfadenite caseosa pelo ELISA indireto foi de 82,7% das 498 amostras testadas em 44 propriedades, apresentando 88,6% de rebanhos positivos (tabela 7); valor muito superior aos observados por Rebouças et al. (2013), no estado da Bahia, que obtiveram uma prevalência de 37,9% em pesquisa de validação de um ELISA indireto.

Tabela 7: Prevalência de amostras e de propriedades positivas e negativas testadas para Linfadenite caseosa pelo teste de ELISA indireto no município de Pintadas-Bahia.

	N	%	Nº prop.	%
Positivo	412	82,7	39	88,6
Negativo	86	17,3	5	11,4
Total	498	100	44	100

A cada propriedade visitada, foi aplicado um questionário abordando dados do criador, da fazenda e aspectos gerais do rebanho, além das principais enfermidades e alterações clínicas mais frequentes no rebanho, objetivando-se

correlacionar diferentes variáveis acerca do nível tecnológico, sanitário, nutricional, reprodutivo e aspectos zootécnicos com a soropositividade observada. Contudo, uma das doenças mais comum e mais citada pelos

produtores, a Linfadenite caseosa foi apontada em 59,09% das propriedades, como a causadora de grandes perdas econômicas e de fácil disseminação (tabela 8), resultados similares aos demonstrados por Araújo (2012), (63,26%) na microrregião de Feira de Santana. Quando comparado com os valores do ELISA, a observação de que nos questionários a doença é relatada em 59,09% das propriedades, provavelmente revela que em algumas

propriedades, os animais podem apresentar abscessos internos de LC e por isso a enfermidade não é relatada pelo proprietário, mas é detectada pelo teste do ELISA.

Os questionários analisados nos trabalhos de Lima et al. (2013) e Pinheiro et al. (2015) com criadores de caprinos, apontaram os prejuízos com esta enfermidade, em uma prevalência de 95,65% e 77,55%, respectivamente.

Tabela 8: Principais enfermidades e alterações clínicas mais frequentes relatadas nas 44 propriedades no município de Pintadas – Bahia

Alterações Frequentes	Propriedades		
	N	%	IC* (%)
Verminose	11	25	12.2-37.8
Linfadenite Caseosa	26	59,090909	44.6-73.6
Mastite	31	70,454545	57.0-83.9
Ceratoconjuntivite	20	45,454545	30.7-60.2
Diarréia	30	68,181818	54.4-81.9
Aborto	20	45,454545	30.7-60.2
Miíase	4	9,0909091	0.5-17.67
Ectima Contagioso	0	0
Emagrecimento	12	27,272727	14.1-40.4
Ectoparasitas (piolhos, carrapatos)	6	13,636364	3.5-23.8
Pododermatite	8	18,181818	6.8-29.6
Retorno de cio nas ovelhas cobertas	10	22,727273	10.3-35.1
Alterações neurológicas	0	0
Baixa taxa de fertilidade	6	13,636364	3.5-23.8
Epididimite	3	6,8181818	0.0-14.34
Baixo ganho de peso dos borregos	13	29,545455	16.1-43.0
Outras	25	56,818182	42.2-71.5

*IC= Intervalo com 95% de confiança para a proporção

Em cada placa de ELISA foram testadas 45 amostras em duplicada. Na leitura do teste, após emissão da D.O., foram obtidas as médias e o desvio padrão para cada amostra testada.

As 412 amostras que obtiveram resultado positivo no ELISA estão representadas nas figuras 5 e 6. E as

amostras negativas foram representadas pela figura 7, demonstrando a quantidade de animais em cada propriedade.

Figura 5: Número de amostras positivas por propriedade.

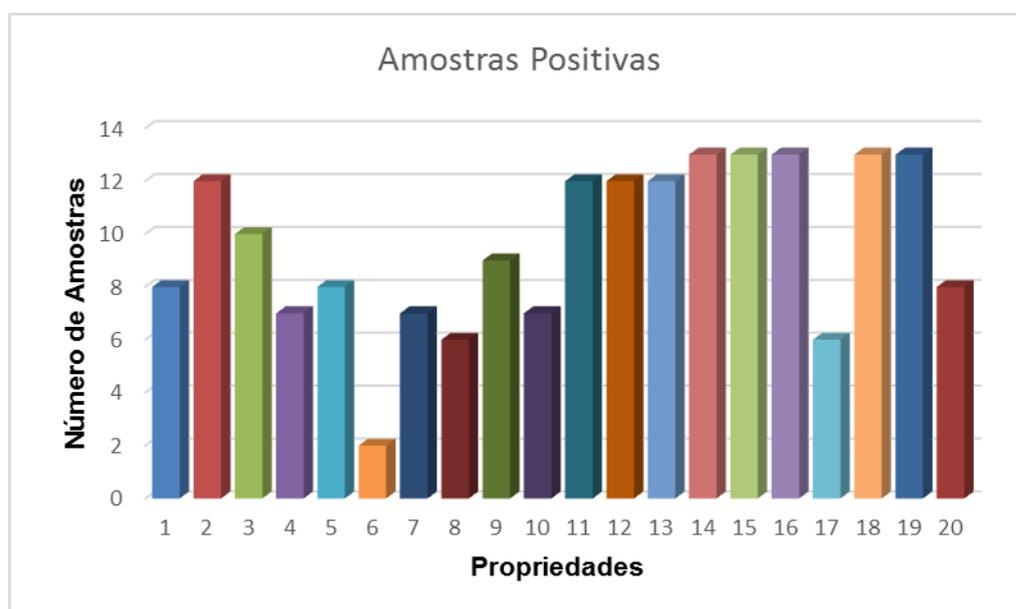


Figura 6: Número de amostras positivas por propriedade (continuação)

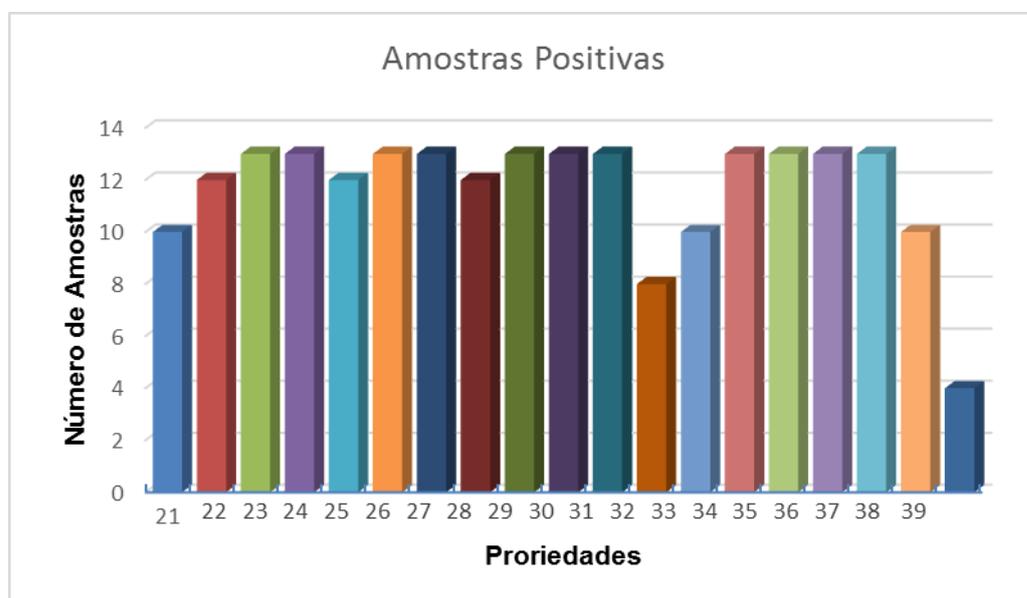
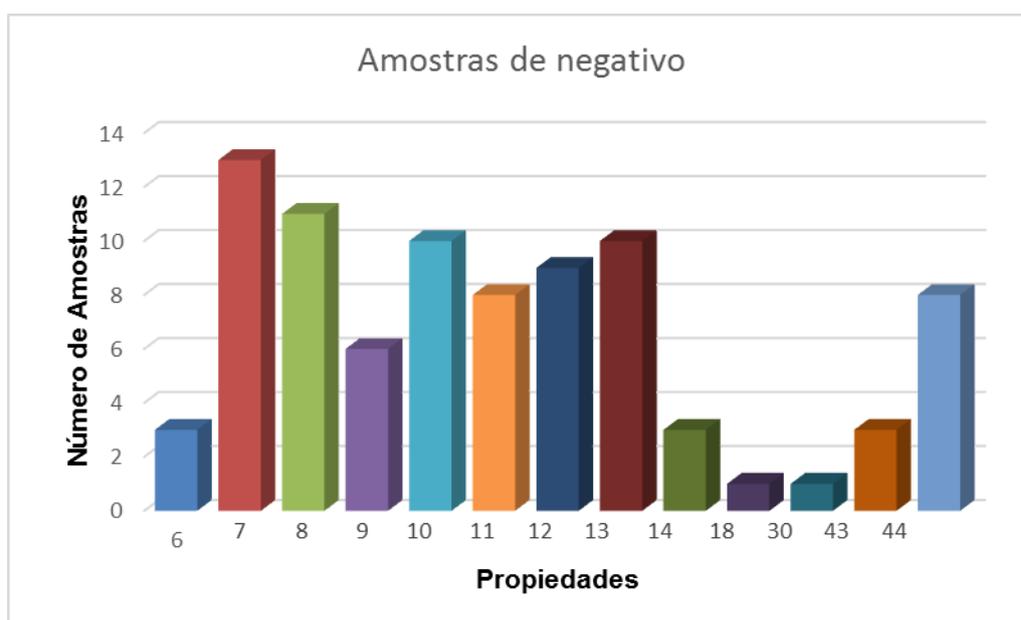


Figura 7: Número de amostras negativas por propriedades.



Chirino-Zárraga et al. (2009), testando cabras na Venezuela pela técnica de ELISA, confirmaram uma prevalência de 72,73%. Jung et al. (2015), utilizando a técnica sorológica ELISA, confirmaram uma soroprevalência de 57,3% em cabras coreanas. Entretanto no Brasil, Seyffert;Guimarães & Pacheco (2010), testando 676 cabras em Minas Gerais, obtiveram 78,9% de animais positivos no ELISA indireto. Na região Nordeste, onde a incidência é alta, Pinheiro et al. (2000), analisaram 127 propriedades no estado do Ceará, verificando que a ocorrência de LC é de 66,9%.

CONCLUSÃO

O município de Pintadas é caracterizado pelo clima semiárido e pela predominância da criação do tipo semi-extensiva, com baixa produtividade e muitas vezes utilizada para auto subsistência. A soropositividade foi muito elevada para *C. pseudotuberculosis* nos rebanhos ovinos deste estudo, demonstrando conseqüentemente, que devem ser implantadas práticas de gestão apropriadas para o controle de Linfadenite caseosa que favoreçam a redução da disseminação da doença.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, B.B. Inquérito Soroepidemiológico da *Brucella ovis* em Rebanhos Ovinos da Microrregião de Feira de Santana- Bahia e Caracterização dos Sistemas de Produção. 2012 .95fl. **Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos)**. Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.
- CARMINATI, R.; BAHIA, R. C.; MOURA-COSTA, L. F.; PAULE, B. J. A.; VALE, V. L.; REGIS, L.; FREIRE, S. M.; NASCIMENTO, I.; SCHAER, R.; MEYER, R. Determinação da sensibilidade e da especificidade de um teste de ELISA indireto para o diagnóstico de linfadenite caseosa em caprinos. **Ver Cienc Med Biol**, v.2, p.88–93, 2003.
- CHIRINO-ZÁRRAGA, C., REY-VALERION, C., SCARAMELLI, A., CARRERO, L. Diagnosis of caseous lymphadenitis by ELISA in naturally infected goats from Venezuela. **Small Rumin. Res.** v.87, p.92–95, 2009.
- COLLETT, M.G.; BATH, G.F.; CAMERON, C.M. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections. In: Infectious diseases of livestock with special reference to Southern Africa, 2nd ed, Coetzer, J., Thomson, G.R., Tustin, R.C. (editors.). **Oxford University Press**, Cape Town, p. 1387–1395, 1994.
- DERCKSEN, D. P.; BRINKHOF, J. M.; DEKKER-NOOREN, T. A. Comparison of four serological tests for the diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goats, **Veterinary Microbiology**, v. 2, n. 75, p. 167-175, 2000.
- DORELLA, F.A.; PACHECO, L.G.C.; OLIVEIRA, S.C.; et al. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. **Veterinary Research**, 37: 201-218, 2006.
- EMPRESA BAIANA DE DESENVOLVIMENTO AGRÍCOLA (EBDA), 2000. Disponível em <http://www.seagri.ba.gov.br/ebda/abril-maio00mat-7.htm>. Acessado em 14/11/2013.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Pecuária Municipal**, Brasil, v.38, 2010.
- JUNG, B. Y.; LEE, S. H.; KIM, H. Y.; BYUN, J. W.; SHIN, D. H.; KIM, D.; KWAK, D. Serology and clinical relevance of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in native Korean goats (*Capra hircus coreanae*). **Trop Anim Health Prod.** 2015.
- LIMA, C. C. V.; COSTA, J. N.; SOUZA, T. S. ; MARTINEZ, P. ; COSTA NETO, A. O.; ANUNCIAÇÃO, A. V. M.; ALMEIDA, M. G. Á. R.; ARAÚJO, B. R.; PINHEIRO, R.R. Inquérito soroepidemiológico do lentivírus caprino e perfil das criações de caprinos na região do Baixo Médio São Francisco (BA). **Arquivos do Instituto Biológico** (Online), v. 80, p. 288-296, 2013.
- LUCAS, R. P.; SCARAMUCCI, C. P.; PEREIRA, L. Linfadenite caseosa em ovinos – Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano VII, n. 12, 2009.
- MEYER, R. *et al.* In vitro IFN-gamma production by goat blood cells after stimulation with somatic and secreted *Corynebacterium pseudotuberculosis* antigens. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 107, p. 249–254, 2005.

- MOURA-COSTA, L. F. *Corynebacterium pseudotuberculosis*, o agente etiológico da linfadenite caseosa em caprinos. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**. v. 1, n. 1, p. 105-115, 2002.
- PATON, M. W.; ROSE, I. R.; HART, R. A.; SUTHERLAND, S. S.; MERCY, A. R.; ELLIS, T. M.; DHALIWAL, J. A. New infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* reduces wool production. **Australian Veterinary Journal**, v. 71, n. 2, p. 47-49, Fev. 1994.
- PINHEIRO, D. N. S. **Levantamento soropidemiológico da artrite encefalite caprina na região sisaleira e avaliação dos fatores de risco**. 2015.94fl. Dissertação (Mestrado Profissional em Defesa Agropecuária) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2015.
- PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F.; HADDAD, J.P.A.; ANDRIOLI, A. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.5, p.534-543, 2000.
- RIBEIRO, D.; DORELLA, F. A.; PACHECO, L. G. C.; SEYFFERT, N.; DE PAULA CASTRO, T. L.; PORTELA, R. W. D.; MEYER, R.; MIYOSHI, A.; LUVIZOTTO, M.C.R.; AZEVEDO, V. Subclinical Diagnosis of Caseous Lymphadenitis Based on ELISA in Sheep from Brazil. **J. Bacteriol Parasitol**, v. 4:3, 2013.
- REBOUÇAS, M. F.; LOUREIRO, D.; BASTOS, B. L.; MOURA-COSTA, L. F.; HANNA, S. A.; AZEVEDO, V.; MEYER, R.; PORTELA, R. W. Development of an indirect ELISA to detect *Corynebacterium pseudotuberculosis* specific antibodies in sheep employing T1 strain culture supernatant as antigen. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V.33(11), p.1296-1302, 2013.
- SEYFFERT, N.; GUIMARÃES, A. S.; PACHECO, L. G. C.; PORTELA, R. W.; BASTOS, B. L.; DORELLA, F. A.; HEINEMANN, M. B.; LAGE, A. P.; GOUVEIA, A. M. G.; MEYER, R. MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. High seroprevalence of caseous lymphadenitis in Brazilian goat herds revealed by *Corynebacterium pseudotuberculosis* secreted proteins-based ELISA. **Research in Veterinary Science**. p. 50-55, 2010.
- ZERBINATI, J.; GREVE, I. C.; LEAL, R. F.; AMORIN, L. M. P. V.; SILVA, D. L.; VIEGAS, S. R. A. A.; PEIXOTO, A. P. C.; CARMINATI, R.; BAHIA, R. C. Produção e padronização de um antígeno para um teste elisa indireto no diagnóstico da Linfadenite caseosa em soros caprinos. **Rev. Acad., Curitiba**, v. 5, n. 3, p. 285-293, 2007.

7. ANEXO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA
Mestrado Profissional em Defesa Agropecuária

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

Data:	Número do Cadastro:
Responsável pelo preenchimento:	

IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTOR:

Nome:			
Endereço:			
Cidade:	UF:	CEP:	Tel:

DADOS DA PROPRIEDADE:

Nome da propriedade:	
Endereço:	
Município:	Área total (ha):
Nome do gerente:	
Finalidade da propriedade:	
Pastagens cultivadas (ha): () Sim () Não	
Quais?	
Faz divisão de pastagens? () Sim () Não	
Fonte de água:	
Aprisco: () Sim () Não	
Tipo: () chão batido () ripado () cimentado () Outro _____	
Cobertura: () Sim () Não	
Acompanhamento técnico: () Sim () Não	
() Médico Veterinário () Zootecnista () Agrônomo	
() Outro _____	
Frequência das visitas técnicas:	

DADOS DO REBANHO:

Animais criados: ()ovinos ()caprinos ()bovinos ()outros
Total de ovinos na propriedade: Fêmeas: Machos: Jovens:
Identificação dos animais: ()Sim ()Não Tipo:
Tipo de Exploração: ()Genética ()Corte
Sistema de Criação: () Intensivo () Extensivo () Semi-intensivo () Outros
Ano de início da criação:
Suplementação alimentar:
Mineralização:
Aquisição de: () matrizes. Origem: () sêmen. Origem: () embriões. Origem:
Reprodutores: () Comprados () Trocados () Emprestados Origem: Tempo de permanência do reprodutor na propriedade: Raça dos reprodutores:
Utiliza algum critério sanitário na aquisição de animais? () Sim () Não Quais?
Venda de: () animais em feiras agropecuárias. Onde? () sêmen () embriões () animais para abate.
Presença de rufiões: () Sim () Não Tipo: () Aderência () Deslocamento () Vasectomia
Observação de alterações clínicas: () artrites _____ () resistência a exercícios _____ () anemia _____ () emagrecimento _____ () dificuldade respiratória _____ () sinais neurológicos. Quais? _____ () distúrbios digestivos. Quais? _____ () mastite _____ () linfadenite caseosa (mal do caroço) _____ () piolho _____

<input type="checkbox"/> carrapato _____ <input type="checkbox"/> berne _____ <input type="checkbox"/> miíase (bicheira) _____ <input type="checkbox"/> pododermatite _____ <input type="checkbox"/> ceratoconjuntivite _____ <input type="checkbox"/> diarreia em animais adultos _____ <input type="checkbox"/> diarreia em animais jovens _____ <input type="checkbox"/> baixa taxa de fertilidade das fêmeas _____ <input type="checkbox"/> retorno de cio das fêmeas _____ <input type="checkbox"/> alterações na bolsa escrotal do macho. Quais? _____ <input type="checkbox"/> abortamentos _____ <input type="checkbox"/> natimortos _____ <input type="checkbox"/> nascimento de cordeiros fracos _____ <input type="checkbox"/> malformações _____ <input type="checkbox"/> alta mortalidade de neonatos _____ <input type="checkbox"/> baixo ganho de peso de animais jovens _____ <input type="checkbox"/> outras observações
Plantas tóxicas descritas na propriedade: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Quais?
Vermifugação: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Frequência: Produto/princípio ativo: Alternância do princípio ativo: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Periodicidade: Exame parasitológico de fezes? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Famacha? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Vacinação: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Quais? Frequência:
Práticas sanitárias utilizadas: <input type="checkbox"/> troca de pasto após a vermifugação <input type="checkbox"/> permanência de 12 h após a vermifugação <input type="checkbox"/> descanso das pastagens <input type="checkbox"/> vermífuga os animais recém-chegados a propriedade <input type="checkbox"/> quarentena dos animais adquiridos <input type="checkbox"/> área de isolamento de animais doentes <input type="checkbox"/> casqueamento dos animais <input type="checkbox"/> esterqueiras <input type="checkbox"/> separa os animais jovens dos adultos <input type="checkbox"/> piquete maternidade <input type="checkbox"/> Outras. Quais?
Realiza exame andrológico nos machos? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Frequência: Alterações mais frequentes:
Corte e cura de umbigo do neonato: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Produto utilizado:

Monitoramento da mamada do colostro: ()Sim ()Não
Banco de colostro: ()Sim ()Não
Aleitamento: () Natural () Artificial - () leite de cabra ()leite de vaca () Outro
Principais causas de mortalidade de cordeiros:
Castração: ()Sim ()Não Idade: ()Cirúrgica ()Burdizzo ()Elastrador ()Outro
Idade da desmama:
Realização de exames: () Sim () Não Quais?
Reprodução: () monta natural () inseminação artificial () transferência de embrião

