

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

THAISE MARQUES ALVES

**INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL DE RISCO À *Brucella abortus* E AMEAÇA À
SAÚDE PÚBLICA EM FRIGORÍFICO SITUADO EM UMA CIDADE NA REGIÃO
SUL DA BAHIA**

ILHÉUS-BAHIA

2020

THAISE MARQUES ALVES

**INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL DE RISCO À *Brucella abortus* E AMEAÇA À
SAÚDE PÚBLICA EM FRIGORÍFICO SITUADO EM UMA CIDADE NA REGIÃO
SUL DA BAHIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- graduação em
Ciência Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz, como
parte das exigências para obtenção do título de Mestre em
Ciência Animal. Área de concentração: Clínica e Sanidade
Animal. Orientadora: Prof. DSc. Poliana De Castro Melo;

Medicina Veterinária Preventiva

Orientadora: Prof. Dra. Poliana da Castro Melo

ILHÉUS-BAHIA

2020

V657 Vieira, Haissa Mabel Oliveira.
Avaliação da ozonioterapia no tratamento da papilomatose bovina / Haissa Mabel Oliveira Vieira. – Ilhéus, BA: UESC, 2020.
x, 63 f. : il. ; anexo.

Orientadora: Poliana de Castro Melo.
Dissertação (mestrado) –Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

Referências: f. 51-61.

1. Bovinos – Doenças. 2. Papilomatose bovina. 3. Epidemiologia. I. Título.

CDD 636.2089

THAISE MARQUES ALVES

**INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL DE RISCO À *Brucella abortus* E AMEAÇA À
SAÚDE PÚBLICA EM FRIGORÍFICO SITUADO EM UMA CIDADE NA REGIÃO
SUL DA BAHIA**

Ilhéus-BA, 28/02/2020

Poliana de Castro Melo – PhD
UESC/DCAA
Orientadora

Anaiá da Paixão Sevá – PhD
UESC/DCET

Lília Marcia Paulin – PhD
Instituto Biológico de São Paulo

ILHÉUS-BAHIA

2020

“Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade”.

Marie Curie

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a força divina reunida em amor e paz existente em nossos corações que torna justo o ato de viver. A minha família, agradeço pelo apoio e por tudo que eu sou, me tornei e me tornarei, sou muito grata principalmente aos valores morais ensinados em cada ato e palavra.

A minha orientadora agradeço o aprendizado, a oportunidade, amizade, e os conselhos para minha carreira acadêmica. Estendo meu agradecimento aos professores, coordenação e secretário do programa de pós-graduação que se empenharam na tarefa de organizar e melhorar a qualidade acadêmica das nossas pesquisas.

Agradeço a parceria do Instituto Biológico de São Paulo, Laboratório Hermes Pardini, Serviço Especial de Saúde Pública em Itabuna, e ao frigorífico que entendendo a importância do tema para a saúde pública mesmo diante dos desafios abriu as portas para a realização da pesquisa, em busca de melhoria da qualidade.

Agradeço ainda aos estudantes de iniciação científica que me auxiliaram no processo, em especial a Henrique pela competência e responsabilidade. E a técnica de Laboratório Fabiana que sempre competente, e dedicada nunca mediu esforços para ajudar. A vocês também agradeço pela amizade.

Ao longo destes dois anos ainda conheci estudantes de graduação que no estágio à docência I e II me proporcionaram a experiência da troca de conhecimento que fortaleceu a certeza do meu entusiasmo pela pesquisa e ensino. Ao núcleo UESC Rondon agradeço a oportunidade dos projetos de extensão; na figura do Professor Guilhardes, a quem tenho admiração pela competência e Humildade, agradeço a todos os integrantes. Em cada atividade extensionista eu aprendia mais sobre a minha responsabilidade enquanto cidadã e ser humano.

Aos amigos que fiz na UESC, aos antigos amigos, com quem, a partir de uma mensagem ou ligação eu sei que posso contar, ao meu namorado que antes de tudo sempre foi meu amigo, e aos colegas de trabalho meus amigos da Universidade Federal do Oeste da Bahia, agradeço pelo sorriso, apoio, carinho e afeto.

Aos membros da Banca Examinadora agradeço pela contribuição na minha formação profissional.

Gratidão a todos que direta ou indiretamente me ajudaram neste caminho.

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL DE RISCO À *Brucella abortus* E AMEAÇA À SAÚDE PÚBLICA EM FRIGORÍFICO SITUADO EM UMA CIDADE NA REGIÃO SUL DA BAHIA

RESUMO

A brucelose é uma antropozoonose causada por bactérias do gênero *Brucella spp.* Dentre as espécies patogênicas para humanos, a *B abortus* (espécie que preferencialmente acomete bovídeos) é principal fonte de infecção para os mesmos. Estudar o potencial de risco da *Brucella spp.* em frigoríficos é de extrema importância visando avaliar a situação da enfermidade nestes locais, trazendo informações que auxiliem na sua prevenção, controle e erradicação da enfermidade. Partindo destes pressupostos, objetivou-se investigar, a partir de inquérito epidemiológico e análise sorológica, a sanidade animal e humana com relação a *Brucella spp.* em um frigorífico situado em uma cidade de Itabuna, região sul do Estado da Bahia. Para tanto, foram colhidas amostras sanguíneas de trabalhadores deste frigorífico e de animais abatidos com Serviço de Inspeção Estadual. Em seguida, foi realizado o teste antígeno acidificado tamponado para animais e humanos, o teste de soroaglutinação lenta em tubos apenas para humanos e os testes de fixação de complemento e 2-mercaptoetanol com a soroaglutinação lenta para os animais; aos trabalhadores aplicou-se inquérito epidemiológico para avaliar fatores de risco acerca da enfermidade. Após análise de dados, concluiu-se que existe a ocorrência de infecção por *Brucella spp.* em 14% dos bovinos avaliados e abatidos neste frigorífico. É importante destacar que os trabalhadores deste local estão expostos à infecção por esta bactéria, tanto em carácter ocupacional, quanto pelo consumo de alimentos, que são fonte de infecção da mesma.

.

Palavras-chave: abate bovino, Brucelose, magarefes, zoonose

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL DE RISCO À *Brucella abortus* E AMEAÇA À SAÚDE PÚBLICA EM FRIGORÍFICO SITUADO EM UMA CIDADE NA REGIÃO SUL DA BAHIA

ABSTRACT

The brucellosis is an anthroozoonosis caused by bacteria of the genus *Brucella spp.* Among the zoonotic species, *B abortus* is the most important specie that affects cattle and can easily be transmitted to humans. To study the risk potential of *Brucella spp.* in a slaughterhouse it is extremely important to assess the situation of the disease, raising information to assist in the prevention, control and eradication of the disease. Based on these facts, the aim of this work was to investigate from an epidemiological survey and serological analysis the animal and human health in relation to *Brucella spp.* in a slaughterhouse located in the city of Itabuna city, southern region of Bahia State. For this purpose, blood samples were collected from workers and animals of a slaughterhouse with the State Inspection Service. Then the acidified buffered antigen test was performed for animals and humans, serum tube agglutination test (SAT) was performed only for humans; complement fixation test and 2-mercaptoethanol with SAT was performed only for animals. In addition, an epidemiological survey was applied to workers to assess the risk factors for the disease. After data analysis, it was concluded that infection by *Brucella spp.* was detected in 14% cattle in a slaughterhouse located in the city of Itabuna Bahia. It is important to highlight that the workers of this slaughterhouse are exposed to infection by this bacteria, both occupationally and through consumption of foods that are a source of infection.

Keywords: Brucellosis, butcher , cattle slaughter, zoonosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Transmissão Da Brucelose Entre Animais.	16
Figura 2: Membranas E Anexos Fetais Na Vaca Prenhe	18
Figura 3: Gráficos Demonstrativos Dos Sintomas E Sinais Clínicos De 500 Pacientes Infectados Por Brucella. Melitensis.	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tabela de contingência demonstrativa da organização dos dados dos testes em relação a confirmação dos doentes.	32
Tabela 2: Avaliação sorológica através técnica aat, sal, 2-me e fc para bovinos abatidos em frigorífico situado na cidade de Itabuna, Bahia.....	34
Tabela 3: Resultado do aat1 frente ao resultado confirmatório.....	35
Tabela 4: Resultado do aat2 frente ao resultado confirmatório.....	36
Tabela 5: Resultado sal frente aos confirmatórios.	36
Tabela 6: Resultado do 2ME frente ao TFC.....	36
Tabela 7: Resultado do teste 2me/sal frente ao tfc.	37
Tabela 8: Resultado do tfc frente ao 2me/sal.....	37
Tabela 9: Estatística epidemiológica dos testes empregados para diagnóstico sorológico de brucelose em bovinos 95% de confiança.....	37
Tabela 10: Avaliação dos fatores de risco em relação a brucelose para indivíduos que trabalham em frigorífico.....	38

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1. Objetivo geral	13
2.2. Objetivos específicos	13
3. REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1. Agente etiológico	14
3.2. Transmissão	15
3.3. Sinais clínicos nos animais domésticos	17
3.4. Sintomas em seres humanos	19
3.5. Epidemiologia	21
3.6. Diagnóstico laboratorial	23
3.7. Tratamento em humanos	25
3.8. Medidas sanitárias e preventivas	26
4. MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1. Coleta de amostras e dados epidemiológicos	28
4.2. Sorologia dos bovinos	29
4.2.1. AAT	29
4.2.2. SAL/2ME	30
4.2.3. FC	30
4.3. Sorologia dos Humanos	31
4.3.1. SAT	31
4.3.2. AAT	31
4.4. Análise Estatística	31
4.5. Divulgação dos resultados	32
5. RESULTADOS	34
6. DISCUSSÃO	39
7. CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS	44
APÊNDICE	50

1. INTRODUÇÃO

A brucelose, também denominada febre de Malta ou febre do mediterrâneo é uma antroponose causada por bactérias do gênero *Brucella spp.* e, dentro deste gênero são descritas várias espécies, cada uma com seus hospedeiros preferenciais a *B. melitensis* que tem predileção por caprinos e ovinos, e a *Brucella abortus* por bovídeos e a *B suis* por suínos. Apesar da predileção por espécie animal outras espécies podem ser infectadas por estas, incluindo os seres humanos (BRASIL, 2006; SCHOLZ et al., 2010).

Nos animais terrestres a brucelose se manifesta com a ocorrência de infertilidade, nascimento de filhotes prematuros e fracos, epididimite, e redução na produção de leite; representando grandes perdas para o setor produtivo de carne, leite e derivados, e apresentando risco a saúde pública (BRASIL, 2006).

Em Humanos a infecção por *Brucella spp.* tem período de incubação que varia de 7 a 21 dias. Após este período, na fase aguda, a enfermidade manifesta-se através de febre intermitente superior a 38°C , acompanhada por mal-estar, cefaleia, anorexia e prostração; na fase crônica há envolvimento do sistema osteoarticular, no qual o doente refere fortes dores na coluna lombar, articulação sacroilíaca, articulação coxofemural, joelho e articulação tibiotársica (PAULA et al., 2016).

A infecção pode ocorrer por via oral, a partir do consumo de carne mal passada, leite e derivados não pasteurizados, ou por via respiratória e cutânea através do contato direto com tecido de animal infectado, antígenos, vacinas, e cultura bacteriana, sem uso do equipamento de proteção individual (CORBEL, 2006).

Soares (et al., 2015) encontrou prevalência de 4,4% de uma amostragem de 455 pessoas investigadas para brucelose, sendo o consumo de leite cru e derivados, manejo de animais sem luvas, fatores de risco relatados pelos reagentes. Ao avaliar profissionais da pecuária, incluindo criadores de gado, e trabalhadores de matadouro, talhos e salas municipais de abate Mufinda et al., (2017) observaram 15,6% de reagentes a enfermidade numa amostragem de 323 indivíduos, onde destes 131 eram trabalhadores de matadouros o que representou 5,3% de prevalência.

Trabalhadores de indústria frigorífica estão em contato direto com tecido animal, estudo realizado no Estado do Mato Grosso verificou associação significativa

da doença em humanos e bovinos abatidos; dentre 134 trabalhadores, seis foram positivos, e de 468 vacas 35 também foram positivas para *B. abortus* em testes sorológicos (SCHNEIDER et al., 2013).

Os estudos demonstram a prevalência da brucelose entre animais e humanos e a transmissão relatada em alguns deles seria através da manipulação de tecido animal sem os cuidados sanitários, representa risco não só a saúde do trabalhador, mas de toda a população que consome produtos que não passam por procedimentos sanitários adequados (ASSENGA et al., 2016). Estes fatores, contribuem para a manutenção da bactéria no ambiente tornando ineficiente o controle e erradicação da enfermidade.

O diagnóstico laboratorial da brucelose tanto em humanos quanto em animais ocorre através de testes sorológicos, técnicas de biologia molecular ou isolamento microbiológico.

Os estudos sorológicos podem confirmar a exposição dos trabalhadores e dos animais a *Brucella spp.*, nos testes sorológicos quando reagente a partir de antígenos conhecidos é possível identificar a espécie de *Brucella spp.* a que se foi exposto, a exemplo dos estudos citados que identificaram a exposição a *B abortus*. Contudo, existe possibilidade de reação cruzada na sorologia entre *B abortus*, *B suis*, e *B melitensis* (MIRNEJAD et al., 2013).

Os testes moleculares e isolamento microbiológico podem ser realizados em animais através de tecido suspeito tais como feto ou partes do mesmo (fígado, baço, conteúdo gástrico e cérebro) testículos, epidídimo, sêmen, secreção vaginal e útero (MOUSSA et al., 2011) ou através da urina, material mais viável para diagnóstico em humanos (QUEIPO-ORTUÑO et al., 2006).

O diagnóstico laboratorial precisa ser relacionado aos dados epidemiológicos do ambiente estudado, pois a partir destes é possível identificar a fonte de infecção como e quando ocorre, tornando mais eficazes as ações preventivas e educativas referentes a Brucelose, buscando êxito no controle e erradicação da enfermidade (MUFINDA et al., 2017).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Investigar, a partir de inquérito epidemiológico e análise sorológica, a sanidade animal e humana com relação a *Brucella spp.* em frigorífico situado em uma cidade na região sul da Bahia.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar investigação sorológica da ocorrência de infecção e ou exposição dos bovinos abatidos em frigorífico situado em uma cidade na região sul do Estado da Bahia à *Brucella spp.*
- Investigar a ocorrência da brucelose através do sorodiagnóstico e ou exposição dos trabalhadores de um frigorífico situado no local supra citado.
- Aplicar inquérito epidemiológico aos trabalhadores para identificar suspeita de infecção e ou fatores de risco para transmissão da brucelose.
- Correlacionar os achados epidemiológicos e sorológicos encontrados em humanos e animais no contexto da saúde pública.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Agente etiológico

As bactérias do gênero *Brucella spp* são cocobacilos Gram negativos, aeróbias, imóveis, não capsuladas, de formato cocoide, e não possuem capacidade de esporular. Tem como característica importante para a patogenicidade o fato de ser intracelular facultativa (TORTORA et al., 2012) dentro deste gênero já foram descritas onze espécies patogênicas, cada uma com seus hospedeiros preferenciais: *B. melitensis*- caprinos e ovinos, *Brucella abortus*- bovinos e bubalinos, *Brucella suis*- suídeos, lebres, renas e roedores, *Brucella canis*- caninos, *Brucella ovis*- ovinos, *Brucella neotomae*- rato do deserto, *Brucella ceti*- cetáceos, *Brucella pinnipedialis*- pinípedes, *Brucella microti*- camundongo do campo, e a mais recente, *Brucella inopinata*: humano (JAHANS et al., 1997; FOSTER et al., 2007; SCHOLZ et al., 2010; FERREIRA et al., 2017).

A composição da cadeia de lipopolisacarídeo (LPS) do gênero *Brucella spp* determina dois grupos antigenicamente diferentes. A *B. melitensis*, *B. abortus*, e *B. suis*, *Brucella neotomae*, *Brucella ceti*, *Brucella pinnipedialis*, *Brucella microti*, e *Brucella inopinata* fazem parte do grupo de cepas lisas, e a *B. canis*, e *B. ovis*, do grupo de cepas rugosas. As cepas lisas além de apresentar aspecto de colônias lisas quando cultivadas *in vitro* também possuem lipídeo A, e cadeia O; já as cepas denominadas rugosas apresentam colônia com aspecto rugoso *in vitro* e possuem apenas lipídeo A, portanto são desprovidas de cadeia O (LAGE et al., 2008; ANTONIASSI, et al., 2016 ; SKENDROS; BOURA, 2013)

A cadeia O é composta por um homopolímero da perosamina (N, formil-4-amino,4,6-dideoximanose) e sintetizada a partir da deleção e modulação de genes. Tem importante papel na virulência das espécies lisas; estudos demonstraram que a manipulação em laboratórios para a diminuição da cadeia O afeta diretamente a capacidade de virulência da bactéria. Esta cadeia ainda promove ativação do sistema imunológico e conseqüentemente produção de anticorpos pelo hospedeiro (LAGE et al., 2008; SKENDROS; BOURA, 2013)

Na constituição da bactéria há presença ainda de proteínas responsáveis pela evasão da bactéria das ações do sistema imune; são elas: o sistema de secreção tipo IV (virB), o sistema regulatório (BvrS/BvrR) e o Glucano β -cíclico periplasmático,

responsáveis pela capacidade de manutenção da bactéria dentro da célula hospedeira. Estas proteínas, juntamente com a cadeia O promovem a resistência da bactéria e a formação do fagolisosoma (SKENDROS; BOURA, 2013).

Foram identificados entre os genomas das cepas lisas, vários eventos de deleção de inserção e várias regiões polimórficas que codificam proteínas supostamente para conformação membrana externa bacteriana, identificou-se ainda fragmentos genômicos comuns entre *B. suis*, *B. melitensis* e *B. abortus*. Embora a *B. abortus* tenha compartilhado mais fragmentos e teve menos polimorfismos nucleotídicos com relação a *B. melitensis* e *B. suis* (HALLING et al., 2005). Devido as características comuns e a característica de virulência as três espécies tem especial atenção quanto ao caráter zoonótico, estudos como este auxiliam no entendimento dos mecanismos de ação das espécies, bem como a compreensão torna possível a manipulação genética favorável a prevenção e tratamento de infectados.

3.2. Transmissão

Dentre as formas de transmissão da Brucelose dos animais para os seres humanos a via oral é a mais comum e ocorre através do consumo de produtos de origem animal contaminados, tais como: Leite e derivados, carne mal passada ou crua. Por via inalatória através do contato direto com animais infectados e ainda por inoculação acidental de vacinas (PARANÁ, 2015) de pessoas para pessoas a transmissão é rara, mas pode ocorrer pelo contato sexual do indivíduo infectado, ou em transplante de tecido e medula óssea (CORBEL, 2006).

Considerando a saúde ocupacional e as formas de transmissão por contato direto, constituem grupo de risco ocupacional, profissionais da Medicina Veterinária, profissionais de frigoríficos ligados diretamente ao contato com material biológico de animais infectados e profissionais ligados ao setor agropecuário (SCHOLZ et al., 2010, ZHANG et al., 2019). As espécies que comumente infecta os humanos são: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* e *B. canis* (SOARES et al., 2015).

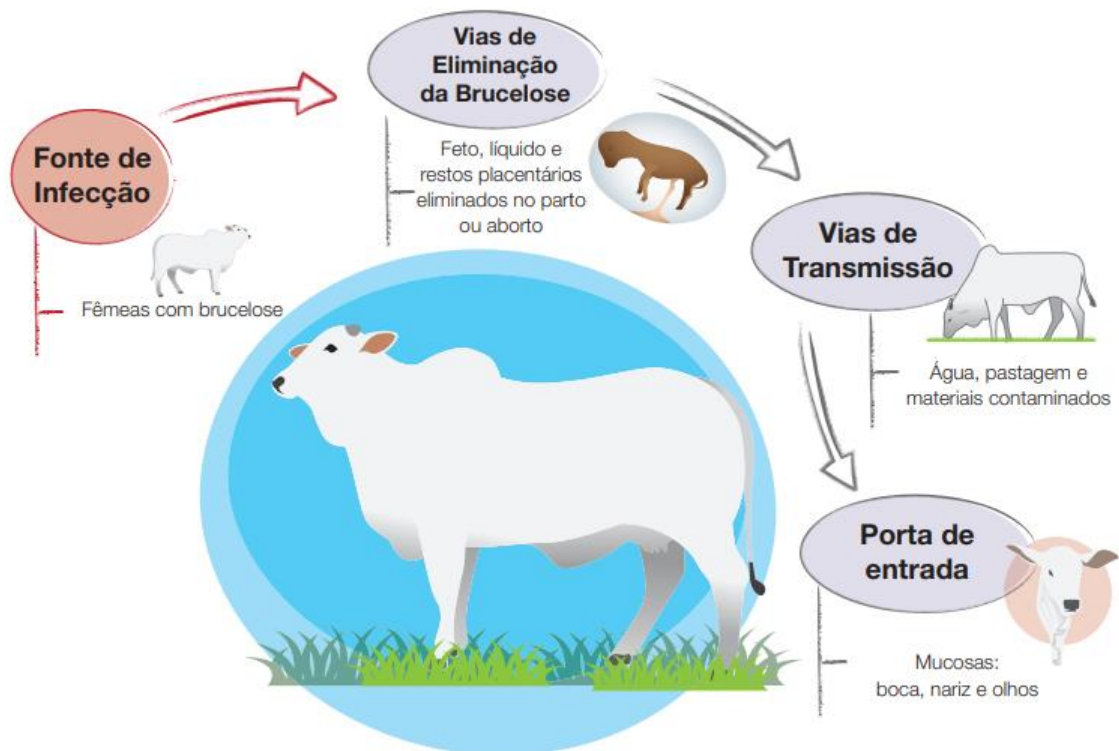
Entre animais a transmissão ocorre principalmente a partir do contato direto com secreção de animais infectados, principalmente aborto e restos placentários, que podem ficar no pasto, onde outros animais tem acesso, assim como promovendo a contaminação de água e fonte de alimentos (FIGURA 01).

Pode ocorrer ainda, a transmissão através da inseminação artificial ou cópula de animais infectados (ALSHAALAN et al., 2014; LAGE et al., 2008; CLEMENTINO et al., 2016; LOURENCETTI et al., 2018) já que a bactéria apresenta viabilidade de infecção no sêmen destes animais (LOURENCETTI et al., 2018).

Como já mencionado em relação a agente etiológico, a *Brucella spp.* cepas lisas podem acometer espécies não específicas. Assim, o material biológico no pasto ou em locais que outros animais tenham acesso possibilitam a transmissão para equinos, caninos, suínos, ovinos e caprinos (SCHNEIDER et al., 2013; DE OLIVEIRA et al., 2016; FREITAS, 2019)

Em felinos a transmissão é pouco conhecida, de acordo trabalho realizado por Helena (et al., 1984) há a capacidade de infecção e resposta humoral, dos felinos a *B.canis*, com possibilidade de transmissão da bactéria para humanos e outros animais. Contudo, até então é desconhecida a manifestação clínica da enfermidade nestes animais.

Figura 1: Transmissão da Brucelose entre animais.



Fonte: Cartilha do produtor (MARIO et al., 2006).

3.3. Sinais clínicos nos animais domésticos

Nos animais os sinais clínicos mais comuns estão relacionados principalmente ao sistema reprodutivo, já que a bactéria possui predileção por este tecido, e a presença do eritritol nos testículos e útero gestante favorece a multiplicação bacteriana (MEÇA; VASCONCELOS; MORO, 2006; PASQUALI et al., 2017)

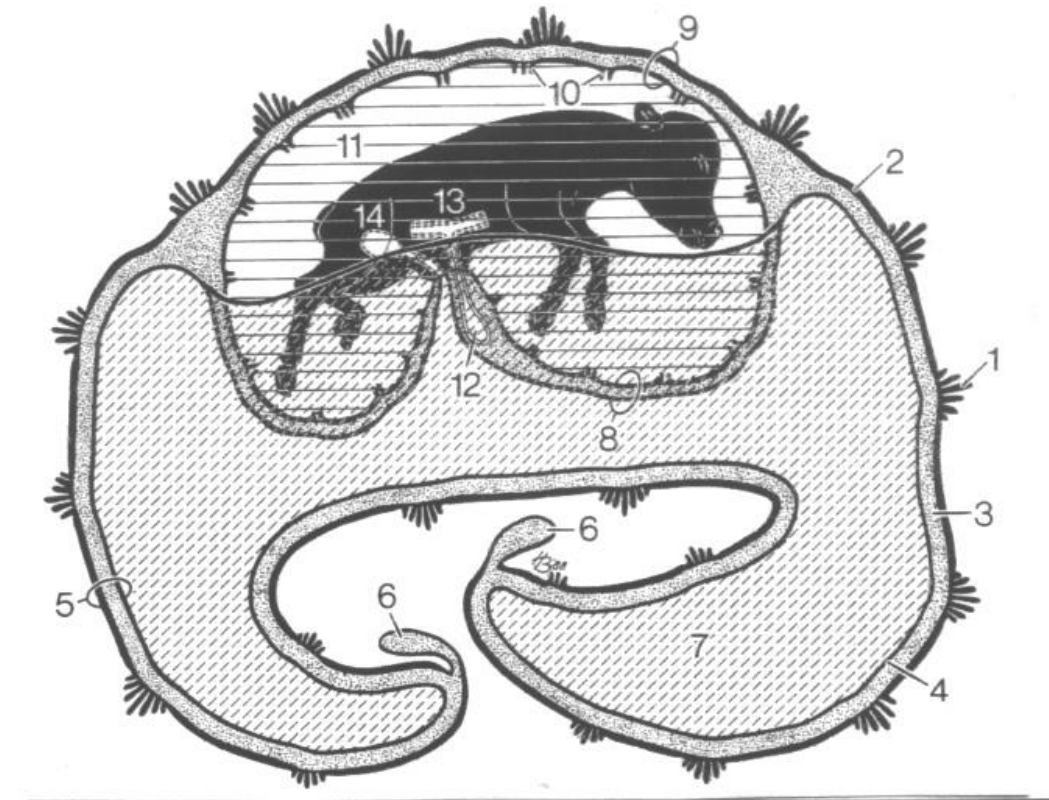
O eritritol, eritrol ou tetrol é um álcool polihídrico de quatro carbonos (CH₂OH-CHOH-CHOH-CH₂OH) que foi cristalizado a partir do líquido amniótico e alantoideano bovino (PEARCE et al., 1961). É um subproduto gerado da transformação da D-eritrose em D-eritrose pela ação da enzima eritrose-1-fosfato desidrogenase, como ocorre com o sorbitol quando a glicose se transforma em frutose nos tecidos fetais de ungulados (HERS, 1958 apud PEARCE et al., 1961).

Nas fêmeas ocorre abortamento no terço final da gestação, principalmente em novilhas no primeiro parto, e nascimento de filhotes fracos ou natimortos em partos posteriores; (RIGUEIRA et al., 2019).

Na vaca, a infecção deixa de ser latente geralmente no terço final da gestação, quando o tecido córion-alantoideano está bem desenvolvido e a disponibilidade de eritritol (e, conseqüentemente D-eritrose) aumenta. Neste período, a multiplicação da brucela é intensa e as lesões produzidas na placenta são caracterizadas por necrose e/ou deposição de fibrina principalmente no córion (o amnion raramente é afetado). Há indícios de que a brucela libere endotoxinas após sua destruição, levando a processo inflamatório dos tecidos e órgãos, causando placentite necrótica dos cotilédones, resultando no seu descolamento pela lise das suas vilosidades. Essas lesões comprometem a circulação materno-fetal, prejudicando a respiração e alimentação fetais, podendo levá-lo à morte e, por conseqüência, ao abortamento. Nos casos agudos da doença, quanto maior a necrose, maior a chance de ocorrer abortamento, único sintoma aparente na maioria das infecções brucélicas. Como o útero não gravídico não é tão suscetível à *B. abortus*, logo após o abortamento ou parto as brucelas desaparecem rapidamente e o mesmo recupera-se em poucas semanas. Por outro lado, quanto menos intensa a necrose maior será a deposição de fibrina e mais tardio o abortamento, Nesse caso, pode haver retenção de placenta decorrente da formação de aderências útero-coriais causadas pela intensa deposição de fibrina O quadro pode evoluir para metrite ou endometrite crônicas e conseqüente subfertilidade, infertilidade ou esterilidade (TYMONEY, 1988; CARTER

& CHENGAPPA, 1991), com ou sem presença de corrimento vaginal (ACHA & SZYFRES 1986; BATHKE, 1988). Quando do abortamento os cotilédones podem apresentar-se alterados em sua forma - "desfeitos" e o feto exibir edema de cordão umbilical, pele, pericárdio e pulmões, além de transudatos hemorrágicos no pericárdio, cavidade torácica e abdominal e hemorragia na cápsula esplênica (TYMONEY, 1988; BATHKE, 1988). Na Figura 02 observa-se a placenta de uma vaca prenhe e suas membranas fetais

Figura 2: Membranas e anexos fetais na vaca prenhe



Legenda:

1. cotilédone;
2. epitélio coriano;
3. tecido conjuntivo córion alantoideano;
4. epitélio alantoideano;
5. tecido córion alantoideano;
6. área não vascularizada;
7. líquido alantoideano;
8. membrana âmnion alantoideana;
9. membrana córion amniótica;
10. ligamento do âmnion;
11. cavidade amniótica com líquido amniótico e feto;
12. cordão umbilical com saída para o intestino;
13. intestino;
14. bexiga com úraco.

Fonte: adaptado de DIRKSEN et al., 1993

A reação inflamatória causada pela bactéria ainda é capaz de afetar os fetos. Antoniassi et al. (2016) verificou broncopneumonia necrosupurativa, pneumonia intersticial e placentite necrosupurativa com áreas de vasculite, mineralização e trombose em restos fetais provenientes de abortos por *Brucella abortus*.

Em machos a qualidade seminal afeta a fertilidade, e na avaliação clínica é comum observar orquite e epididimite em bovinos, ovinos, caprinos, e caninos (LAGE et al., 2008; FREITAS, 2019; LOURENCETTI et al., 2018, ZHANG et al., 2019).

Em caninos infectados naturalmente por *B. canis* anormalidades espermáticas como cauda fortemente dobrada, cabeças soltas, caudas encaracoladas, cabeça com cabeça, são evidenciadas (VOLKWEIS et al., 2018)

Em equinos o sinal quase que patognomônico é a fistula de cernelha, e como a bactéria tem afinidade por articulações, também há relatos de artrite em equinos (RIBEIRO et al., 2008). Assim não se pode negligenciar nenhum sinal clínico em relação as características clínicas da manifestação da enfermidade nas diferentes espécies. Fato este confirmado por Macedo (et al., 2019) que, ao analisar animais de matadouro evidenciou a presença de bursite cervical causada por *Brucella spp.* em 85.1% (40/47) dos animais em São Luís, Maranhão.

Em animais marinhos, as manifestações clínicas são pouco conhecidas. Um golfinho (*Stenella clymene*) encalhado vivo no Estado de Ceará, Brasil, apresentou edema pulmonar no exame necroscópico, sorologia positiva para brucelose, e confirmação de *Brucella spp.* através da técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) convencional (SÁNCHEZ-SARMIENTO, et al., 2013)

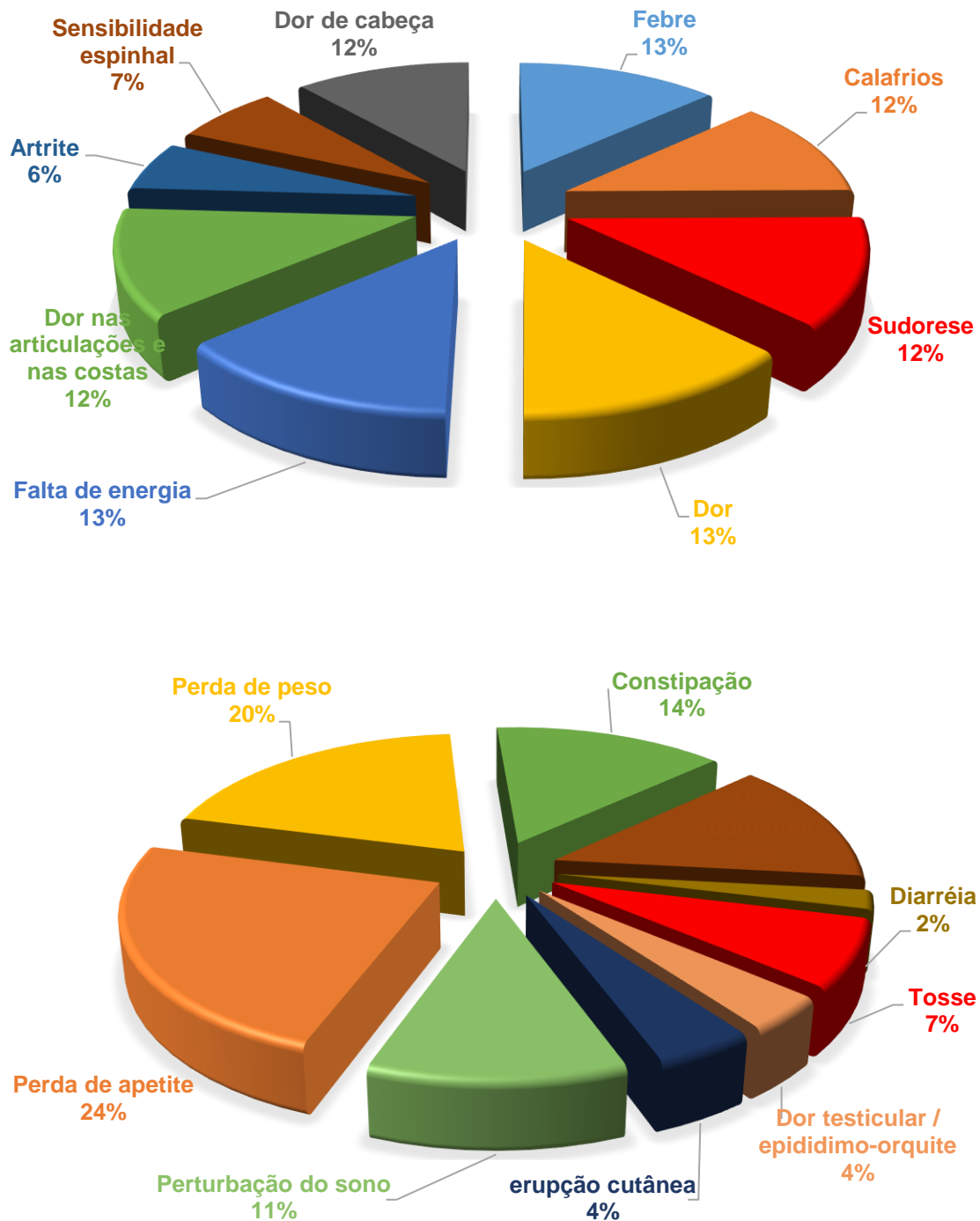
3.4. Sintomas em seres humanos

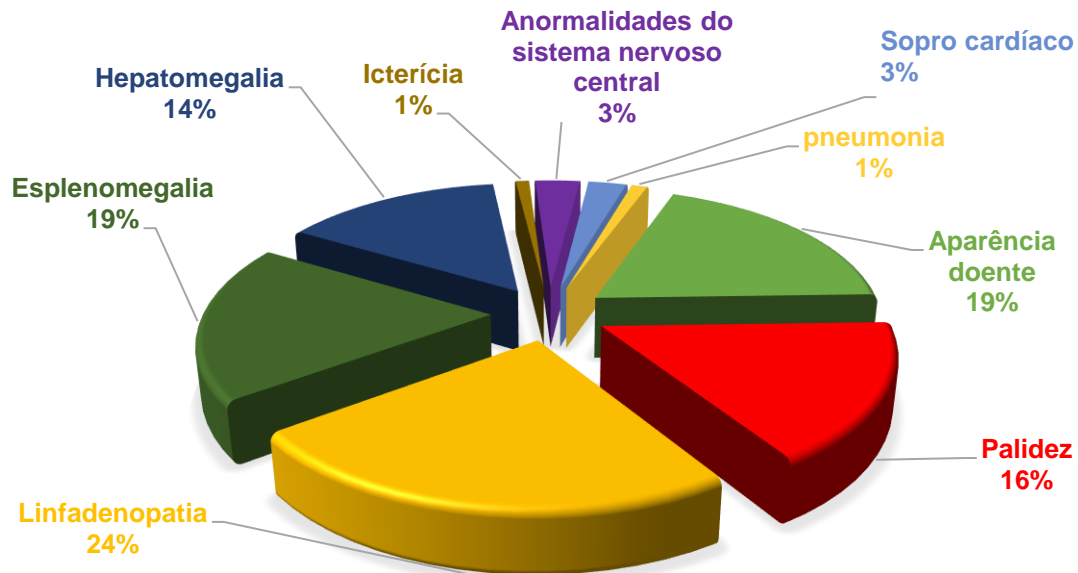
O período de incubação da brucelose em humanos varia de 5 e 60 dias, com possibilidade de até dois anos; os sinais clínicos são inespecíficos e incluem febre, mal-estar; sudorese (noturna e profusa); calafrios; letargia; anorexia; e cefaléia, dor articular, dor muscular, e dor abdominal; cronicamente a enfermidade promove dores articulares com maior frequência afetando a qualidade de vida do indivíduo (CORBEL, 2006; SKENDROS; BOURA, 2013; SOARES et al., 2015).

A organização internacional de saúde ao compilar dados de 500 pacientes positivos para Brucelose causada por *B. Melitensis* verificou que 98,2% apresentavam febre, 94,% letargia,91,4% dores generalizadas, 87,4% sudorese

profusa, 87% calafrios, e dor nas articulações e nas costas (86,2%) sinais clínicos e sintomas que são os mais comuns descritos na literatura (CORBEL, 2006). Contudo, outras manifestações clínicas foram observadas (GRÁFICOS 3).

Figura 3: Gráficos demonstrativos dos sintomas e sinais clínicos de 500 pacientes infectados por *Brucella melitensis*





Fonte: Adaptado de Corbel (2006)

Dentre os indivíduos observados nos estudos, outros sinais clínicos e sintomas foram apresentados, como: sensibilidade espinhal, constipação, diarreia, tosse, dor testicular, dor no epidídimo e orquite, erupção cutânea, perturbação do sono, aparência doente, palidez, linfadenopatia, esplenomegalia, hepatomegalia, icterícia, anormalidades do sistema nervoso central, sopros cardíacos, e até pneumonia.

3.5. Epidemiologia

Estudos de prevalência são importantes para monitoramento da enfermidade no país, bem como avanço das normas de controle, com a finalidade de atingir a erradicação prevista pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) no Brasil.

De Alencar Mota et al.(2016) avaliaram 14 estados do Brasil e de 19.326 fêmeas bovinas incluídas no estudo, 2.533 (13,10%) estavam positivas para a brucelose, ao avaliar ainda, o risco relativo (RR) e o risco de chance (OR) com relação ao sistema de produção, foi verificado como fatores de risco: a quantidade de fêmeas no rebanho superior a 30, e a criação extensiva, e como fator de

proteção: o uso exclusivo de inseminação artificial e presença do suporte técnico veterinário.

Estudos em frigoríficos demonstram que nosso rebanho para produção de carne bovina, inclusive para a exportação, ainda apresenta níveis consideráveis de animais reagentes para brucelose que passam pela linha de abate. No frigorífico localizado no município de Colíder, Estado do Mato Grosso, de 622 amostras, analisadas através do antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e diagnóstico molecular 14,3% dos animais foram positivos para a enfermidade (LOPES et al., 2017).

Em suínos ocorre a contaminação cruzada através da criação consorciada com bovinos ou consumo de derivados lácteos provenientes de animais infectados. RIGUEIRA et al. (2019) colheram, no período de 2011 a 2014, amostras de 1793 suínos domésticos de 823 fazendas no Distrito Federal no Brasil. Destes, 125 animais foram reagentes no AAT, porém apenas uma amostra foi considerada positiva ao 2-ME/SAL. Este soro foi rastreado e verificou-se que nesta fazenda o dono havia suplementado os animais com soro de leite de vaca.

Em distintas regiões do Estado de Minas Gerais Oliveira et al. (2016) coletaram sangue de 18.990 fêmeas em idade reprodutiva, perfazendo um total de 2.185 propriedades. Destas, 3,59% propriedades 0,81% dos animais foram positivos para a doença, indicando que, ainda é preciso atenção quanto a manutenção da *Brucella spp.* neste Estado.

No Estado da Bahia, de acordo informe da Agencia Estadual de Defesa agropecuária (ADAB) no primeiro semestre de 2018 foram realizados 7.246 exames para brucelose e notificados cinco focos da doença com um total de sete animais positivos para brucelose (ADAB, 2018). No primeiro semestre de 2019 não foram notificados focos da doença segundo a agencia (ADAB, 2019). Contudo, é necessário chamar a atenção que nestes períodos não foram realizados inquéritos soropidemiológicos que abrangessem todo o Estado, e que o número de exames citados leva em consideração resultados de laboratórios credenciados no mesmo.

Em humanos poucos estudos de soro prevalência tem sido realizados. No município de Marechal Deodoro, Estado de Alagoas, Brasil, realizou-se uma investigação sorológica para brucelose em 455 indivíduos entre 18 e 64 anos, destes 1,98% reagiram ao AAT, e 1,54% aos teste 2-ME/SAL, indicando exposição da população a *Brucella spp.* (SOARES et al., 2015).

3.6. Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico definitivo de qualquer doença é obtido por isolamento e identificação do agente. No entanto, os métodos diretos são inviáveis quando se trabalha com rebanhos. Assim, os programas de combate à brucelose baseiam-se no sorodiagnóstico, levando-se em conta na escolha dos testes a serem aplicados, as suas características intrínsecas, o custo e a praticidade de execução. (PAULIN, 2002).

Para animais domésticos o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento através da Instrução Normativa nº 34, de 8 de setembro de 2017 determina os métodos para diagnóstico da Brucelose no país. São preconizados os testes: AAT, (2-ME, Teste do Anel em Leite (TAL), Teste de Polarização Fluorescente (FPA) e Teste de Fixação do Complemento (TFC) utilizados para o trânsito de animais, e para a aplicação de medidas do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT) (BRASIL, 2017a).

O teste anel do leite (TAL) tem como princípio a detecção de imunoglobulinas IgM e IgA contra *Brucella abortus* presentes no leite, o teste apresenta alta sensibilidade e baixa especificidade (SILVA JÚNIOR et al., 2007; FILHO, 2014; MOHAMAND et al., 2014) de acordo Instrução normativa nº 10, de 3 de março de 2017 o TAL pode ser utilizado nas plataformas de recebimento do leite, para monitoramento de estabelecimentos quanto a Brucelose (BRASIL, 2017).

A realização do teste, é orientada pela Instrução normativa nº 34, de 8 de setembro de 2017; a qual prevê que o teste seja realizado a partir da homogeneização de 1ml de leite cru mais 30ul de antígeno específico para a prova anel do leite; a mistura deve ser incubada a 37°C e verificada quanto a formação de um anel de creme na superfície, caso haja a formação de um anel de creme azul a amostra é reagente, quando o anel de creme for branco a amostra é não reagente (BRASIL, 2017).

O AAT é produzido a partir da cepa *B. abortus* 1119-3 inativada, corada pelo corante Rosa de Bengala, a uma concentração de massa bacteriana de 8%, em solução-tampão pH 3,65. A acidez inibe a ligação de imunoglobulinas não específicas, promovendo inativação de IgM, favorecendo a ligação apenas de IgG1. É um teste que apresenta alta sensibilidade e alta especificidade, porém, apresenta

como desvantagem a interferência no resultado para fêmeas de idade abaixo de 24 meses vacinadas com B19 (DASSO, 2006; BRASIL, 2006)

A prova do 2 Mercaptoetanol (2ME) e soroaglutinação lenta (SAL) são realizadas juntas possibilitando seu uso como técnica confirmatória. O teste visa a detecção de imunoglobulinas IgG. Em tubos de ensaio contendo solução de SAL e 2-ME são adicionados 0,08 ml, 0,04 ml, 0,02 ml, e 0,01 ml de soro da amostra a ser testada que após incubada a 37°C (trinta e sete graus Celsius) por 48h é visualizada contra a luz, para verificar se houve a formação de uma rede de complexo antígeno e anticorpo, cada tubo nas quatro diluições são verificadas e posteriormente comparadas a tabela de interpretação do resultados (BRASIL, 2006; BRASIL, 2017) fornecido pelo MAPA.

O FC é o teste recomendado pela Organização de saúde animal (OIE) para o trânsito internacional de animais, bem como também pode ser utilizado em território nacional como confirmatório após teste de triagem, o teste detecta tanto IgG1 como IgG2, contudo IgG1 é mais efetivo como fixador do complemento, apresenta como desvantagem a demanda de técnico especializado além de ser uma técnica laboriosa; como vantagem apresenta alta sensibilidade e alta especificidade com baixa possibilidade de reações inespecíficas (OSÓRIO; et al., 2004; BRASIL, 2006; BRASIL, 2017).

Recentemente o teste de polarização fluorescente (FPA) foi inserido como teste único ou diagnóstico confirmatório para a Brucelose pelo MAPA, este teste baseia-se na detecção da diferença de fluorescência emitida entre uma molécula antigênica marcada com fluorocromo ligada ou não a um anticorpo; uma molécula menor gira em maior velocidade resultando em despolarização mais rápida, já uma molécula ligada a um anticorpo e, portanto, mais pesada demora mais para despolarizar. A detecção desta rotação de partículas é mensurada por um analisador de polarização Fluorescente o qual fornece os resultados em unidades de milipolarização (mP) (MATHIAS et al., 2010) será considerado negativo valor menor de 10 mP acima da média dos controles negativos; inconclusivo: de 10 a 20 mP acima da média dos controles negativos; e resultado positivo: mais de 20 mP acima da média dos controles negativos de acordo IN nº10/2017 (BRASIL, 2017).

O ensaio de imunoadsorção enzimática detecta tanto IgM quanto IgG, depende de qual o conjugado que será utilizado, é dividido em ELISA direto, indireto, competitivo e sandwish, o mais utilizado para brucelose é o indireto, que apresenta

variável sensibilidade e especificidade, e não é preconizado pelo MAPA para diagnóstico oficial. Contudo é utilizado para pesquisa e, em casos de suspeita clínica pode ser utilizado como teste de triagem (BRASIL, 2006; KOYUNCU et al., 2018; VATANKHAH et al., 2019).

Dentre os métodos diretos de diagnóstico, temos o Isolamento e identificação da bactéria e a reação em cadeia de polimerase (PCR). Existem vários métodos de PCR para a detecção da bactéria, é um teste de alta especificidade, contudo a sensibilidade depende do material amostrado, é possível realizá-lo através de tecido reprodutivo ou fetal, e urina. Não é preconizado pelo MAPA mas bastante utilizado para pesquisa, principalmente quando se deseja identificar a espécie e o biotipo (ECKSTEIN et al., 2017; VOLKWEIS et al., 2018).

O isolamento da bactéria nem sempre é realizado, por se tratar de uma bactéria fastidiosa que exige ágar específico ou enriquecido, preferencialmente ágar chocolate enriquecido, mais antimicrobianos, ou ágar comercial (BD Brucella Agar with 5% Horse Blood); temperatura de crescimento de 35°C à 37°C; por 72 horas em atmosfera úmida com CO₂ (EMY KOESTANTI et al., 2018).

Os diagnósticos laboratoriais para os seres humanos incluem os testes diretos (cultura e PCR) e os indiretos como o 2-ME, o teste de microaglutinação (MAT), os testes de ELISA, o FPA, e Imunofluorescência Indireta, os testes indiretos detectam resposta humoral a cepa lisa. Assim sendo, indivíduos que foram expostos a cepa da RB51 através de inoculação vacinal, serão não reagentes mesmo sendo positivos e, nestes casos, são recomendados os testes diretos (HYEDA; SBARDELLOTTO, 2011; DIVE, 2019).

3.7. Tratamento em humanos

O tratamento para brucelose em humanos é garantido pelo Sistema Único de Saúde (SUS) através da Lei nº 12.401, de 28 de abril de 2011. Não há um protocolo nacional estabelecido pelo Ministério da Saúde, mas sim medicamentos recomendados e liberados para uso terapêutico cedido gratuitamente pelo SUS (BRASIL, 2011)

O guia de bolso sobre doenças parasitárias e infecciosas elaborado pelo Ministério da Saúde preconiza a como tratamento de primeira escolha a antibioticoterapia, utilizando a Doxiciclina (200 mg/dia) em combinação com a

Rifampicina (600 a 900mg/dia), durante seis semanas e, caso haja recidivas, deve-se repetir o tratamento. Para menores de sete anos, deve ser utilizado Sulfa e Trimetopim associados ou não a Gentamicina (BRASIL, 2006)

Apesar da recomendação de tratamento do guia supracitado, em alguns estados haviam restrições quanto ao uso de alguns destes medicamentos, visto que ainda não havia uma lei que estabelecesse o uso e que justificasse a compra dos mesmos para a distribuição pelo SUS. A fim de solucionar este entrave o secretário de Ciência, Tecnologia e Insumos estratégicos do Ministério da Saúde em 2017 lançou a portaria nº13, na qual “fica ampliado o uso dos medicamentos doxiciclina, estreptomicina e rifampicina para tratamento da brucelose humana no âmbito do Sistema Único de Saúde – SUS” (BRASIL, 2017a).

Porem, há ainda necessidade de avanços quanto ao tratamento em humanos, de acordo relatório emitido pela Comissão Nacional de Incorporação de tecnologias no SUS (CONITEC) Há, ainda, necessidade de estabelecer condutas terapêuticas para tratamentos em crianças, gestantes e em casos de complicações da doença como neurobrucelose, espondilodiscite e endocardite (BRASIL, 2017b)

3.8. Medidas sanitárias e preventivas

A brucelose é uma doença de notificação obrigatória para os animais, pois além do potencial zoonótico, causa grande prejuízo na pecuária, com redução da produtividade de carne e leite, sendo assim o MAPA determina que para bovinos seja realizado o sacrifício sanitário de animais infectados (BRASIL, 2013).

Para equídeos, suídeos, caninos, não há obrigatoriedade do sacrifício sanitário, contudo a recomendação do MAPA é que seja realizado o sacrifício sanitário pois se trata de uma bactéria intracelular facultativa, com possibilidade de resistência e o tratamento para equídeos, e caninos não tem demonstrado eficácia, além do manejo destes animais representar risco aos envolvidos, quando se realiza o tratamento o animal deve ser esterilizado, o animal deve ser monitorado quanto a bacteremia, e o profissional e responsável pelo animal, devem estar cientes da responsabilidade para com a saúde pública (MÉLO et al., 2013; RIBEIRO et al., 2008).

Ficam sujeitos as indicações do regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RISPOA) animais direcionados a produção de leite, e de carne; granjas leiteiras devem ser monitoradas Brucelose, e quando o animal for

reagente deve ser afastado produção até que haja resultado negativo no teste confirmatório, quanto ao abate o RISPOA prevê condenação de carcaça e órgão quando o animal é sororreagente e no exame *ante mortem* estiver febril, quando apenas reagentes ao teste devem ser abatidos separadamente e encaminhados para Departamento de Inspeção Final (DIF) caso apresente lesões a carcaças é destinadas ao aproveitamento condicional, e quando não houver lesões é liberado o consumo e condenados o úbere, o trato genital e o sangue. (BRASIL., 2017c)

Dentre as medidas preventivas a vacinação de fêmeas bovinas e bubalinas, entre 3 e 8 meses de idade, com amostra B19. E para a espécie bovina, a vacina B19 poderá ser substituída pela RB51, sendo que a vacinação, só pode ser realizada sob responsabilidade de profissionais da Medicina Veterinária cadastrados no serviço veterinário oficial de seu estado de atuação (BRASIL., 2017d).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Coleta de amostras e dados epidemiológicos

Após a elaboração do projeto três frigoríficos (dois com serviço de inspeção estadual SIE e um com serviço de inspeção federal SIF) de abate bovino situados em Ilhéus, Itabuna e Itapetinga na região sul da Bahia foram contatados para agendamento de visita e explanação sobre a importância do projeto para a saúde pública. Após contato apenas um estabelecimento manifestou interesse em participar do projeto. Dados do estabelecimento que possui SIE foram coletados para dar entrada aos documentos necessários para submissão do projeto ao Comitê de ética e pesquisa em seres Humanos (CEP), e Comitê de ética no uso de animais.

Após aprovação nos comitês de ética, CEP parecer 2.836.725, e CEUA protocolo 018/18, realizou-se a primeira visita ao estabelecimento para coleta de amostra dos bovinos que estavam sendo abatidos no período de 14 de fevereiro de 2019 a 31 de junho de 2019. A cada visita eram coletadas 50 amostras diretamente após sangria de fêmeas com idade superior a vinte e quatro meses. Nenhuma das fêmeas coletadas eram vacinadas. Foram coletadas amostras dos seguintes locais de origem: Floresta azul, Itororó, Itapé, Firmino Alves, Ibicuí, Itapebí, Itajú do Colônia, Floresta Azul, Itagimirim, e Pontiraguá.

Após coleta de sangue em tubos de 10 ml, as amostras eram refrigeradas e em até 6 horas transportadas ao laboratório de microbiologia da Universidade Estadual de Santa Cruz, onde foram centrifugadas e posteriormente retirado o soro, que foi armazenado em tubos eppendorf a 0°C.

Ao final das coletas todas as 234 amostras foram triadas quanto ao grau de hemólise e quantidade de soro, as que apresentavam pequena quantidade de soro e grau alto de hemólise foram testadas através dos testes Antígeno Acidificado Tamponado AAT e foram não reagentes. Em seguida foram excluídas do processamento já que a quantidade e qualidade das amostras impossibilitaria a realização das técnicas de diagnóstico.

Em seguida foram realizadas as técnicas AAT na UESC e em seguida uma alíquota foi enviada para o Instituto Biológico de São Paulo onde foi realizada nova triagem a partir do AAT e técnicas confirmatórias 2ME/SAL e TFC.

Aproximadamente 20 dias após coletas de animais, todos os indivíduos que trabalham no frigorífico foram convidados a realizar coleta de amostra sanguínea posterior ao fornecimento de informações epidemiológicas sobre contato com fatores de risco para Brucelose (APENDICE) bem como questionamento sobre sintomas mais comuns da enfermidade em humanos. A coleta foi realizada em ambiente fechado na presença de uma Médica Veterinária, um estudante de iniciação científica que realizaram inquérito epidemiológico (após assinatura do Termo de consentimento livre e esclarecido- TCLE) de uma Enfermeira que realizou coleta de amostra sanguínea (seguindo todos os preceitos éticos). Todas as amostras foram identificadas, refrigeradas durante a coleta que durou três horas e em seguida foram encaminhadas para o Serviço Especial de Saúde Pública (SESP) de Itabuna, onde realizou-se retirada do soro em duplicata, e descarte de material biológico. A alíquota de 1ml. foi enviada para laboratório de análises clínicas em Itabuna o qual é filiado ao Hermes Pardini® para realização da Soroaglutinação em Tubo (SAT); e as demais alíquotas foram transportadas para a UESC, e armazenadas a 0°C para posterior realização do teste (AAT). Os dados epidemiológicos foram tabulados em Excel para análise estatística.

4.2. Sorologia dos bovinos

4.2.1. AAT

Na realização do AAT inicialmente, os soros foram equilibrados a temperatura ambiente, em uma placa de vidro de 40 cm x 25 cm e quadriculada com quadrículos de 4,0 cm x 4,0 cm, foi depositado com o auxílio de uma micropipeta em um ângulo de 45° 30ul de antígeno (suspensão de *Brucella abortus* cepa 1119-3 em tampão pH 3,65 corada com Rosa Bengala) em seguida 30ul do soro a ser testado, utilizando espátula estéril as soluções foram homogeneizadas e após a formação de um círculo de aproximadamente 3 cm foram realizados movimentos circulares por 4 minutos, em seguida verificadas contra a luz. As que formaram grumos foram

indicadas como reagentes e as que não formaram como não reagentes. A técnica foi realizada de acordo norma preconizada pelo MAPA. (BRASIL., 2017a)

4.2.2. SAL/2ME

O MAPA preconiza que a técnica Soroaglutinação Lenta (SAL) seja realizada em associação com o 2-mercaptoetanol, pois o SAL apresenta baixa especificidade e alta sensibilidade, quando realizadas juntas essa desvantagem é solucionada, já que os radicais tiol do 2ME degradam a estrutura pentamérica das imunoglobulinas IgM evitando ligações inespecíficas, aumentando a especificidade no teste.

Para tanto, o antígeno para o SAL foi diluído em tubos 100 (cem) vezes em solução salina a 0,85% contendo 0,5% de fenol, concentração final 0,045%. Em seguida foi feita a diluição do antígeno para o 2-ME em tubos 50 (cinquenta) vezes em solução salina 0,85% sem adição de fenol, concentração final 0,090%. A solução de 2-ME foi preparada misturando-se 7,8 ml de 2-ME a 992,20 ml de solução salina a 0,85% sem fenol. Em uma estante foi colocada para cada amostra quatro tubos de solução SAL e quatro de 2ME. Os soros foram diluídos a 1:200, 1:100, 1:50 e 1:25, em seguida foi dispensada a solução de 2ME, aguardou 15 minutos para ação dos radicais de tiol nas imunoglobulinas IgM, neste tempo aos tubos com soro, e solução salina é adicionado o antígeno, após 15 minutos aos tubos de 2ME é adicionado o antígeno, após todos os tubos serem homogeneizados, foram incubados a 37°C por 48 horas. Posteriormente os tubos foram verificados contra a luz, observando existência de aglutinação e turvação, as observações foram classificadas como: completo (+), incompleto (I) ou negativo (-) e posteriormente comparada a tabela de interpretação do teste. A técnica foi realizada de acordo norma preconizada pelo MAPA (BRASIL, 2017a).

4.2.3. FC

Para o teste de Fixação de Complemento foi empregada metodologia citada na IN 34 do MAPA, que consistiu no emprego de microtécnica com incubação a 37°C em duas fases da reação. Utilizando antígeno *Brucella abortus* 119/3; como complemento foi utilizado soro de cobaia, empregando-se unidades hemolíticas 50%. O sistema hemolítico foi formado por eritrócitos de carneiro sensibilizadas com

hemolisina. Foi considerado positivo o soro com no mínimo 25% de fixação de complemento na diluição 1:4.

4.3. Sorologia dos Humanos

4.3.1. SAT

A técnica foi realizada pelo laboratório Hermes Pardini®, já que para comprovação do resultado para humano o mesmo deveria ser laudado por biomédico.

4.3.2. AAT

No laboratório de Microbiologia da UESC foi realizada técnica do AAT para os indivíduos utilizando, antígeno suspensão de *Brucella abortus* cepa 1119-3 em tampão pH 3,65 corada com rosa bengala. Foi utilizado o mesmo procedimento já descrito no parágrafo 4.2.1 acima.

4.4. Análise Estatística

Os dados epidemiológicos, e resultados sorológicos tanto dos humanos quanto dos bovinos foram inicialmente armazenados no programa Excel e posteriormente avaliados através de cálculos epidemiológicos.

Os dados referentes aos bovinos foram organizados em uma tabela de contingência para verificar as características de cada teste em relação ao teste padrão ouro. Os testes AAT1, AAT2, SAL, e 2ME foram comparados ao resultado final dos dois testes confirmatórios TFC e 2ME/SAL, já os testes confirmatórios foram comparados entre si. Assim é possível detectar verdadeiros positivos VP, falsos positivos FP, falsos negativos FN, e verdadeiros negativos VN (TABELA 1). Posteriormente para os cálculos de Sensibilidade, Especificidade, Valor Preditivo Positivo, Valor Preditivo Negativo, e índice Kappa de Cohen foram calculados utilizando o programa OpenEpi versão 3.01 seguindo as formulas: Sensibilidade:

$a/(a+c)$, Especificidade: $d/(b+d)$, Valor preditivo positivo: $a/(a+b)$, Valor preditivo

		Padrão Ouro		
		Positivo	Negativo	
Positivo		(a) vp	(b) fp	Vp+fp
Negativo		(c) fn	(d) vn	Fn+vn
Total		Vp+fn	Fp+vn	A+b+c+d

negativo: $d/(c+d)$.

Tabela 1: Tabela de contingência dos testes em relação ao padrão ouro (confirmação no SAL/2ME+TFC). Fonte: autoria

Para verificar a concordância entre os testes, o Índice *Kappa* foi calculado no Open Epi utilizadas as seguintes formulas:

$$K = \frac{Po - pe}{1 - pe}$$

Sendo:

Po = Proporção de concordâncias observadas

Pe = Proporção de concordâncias esperadas

$$Po = \frac{a + d}{a + b + c + d}$$

$$Pe = \frac{[(a + b) \cdot (a + c) + (c + d) \cdot (b + d)]}{(a + b + c + d)^2}$$

Os dados referentes aos fatores de risco para indivíduos que trabalham no frigorífico foram analisados quanto ao risco de chance (*Odds ratio*), através do programa Open Epi e nível de significância avaliado através do teste Exato de Fisher considerando α 0,1

4.5. Divulgação dos resultados

Após finalização dos exames e análise dos resultados, o indivíduo positivo foi orientado pela equipe do projeto, e a seu gosto encaminhado para o Serviço Especial de Saúde Pública (SESP) em Itabuna. Onde realizou avaliação clínica com infectologista, e coleta de amostra para realização do teste confirmatório (ELISA IgM e IgG) a ser realizado sob responsabilidade do Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN). Para condução do paciente para avaliação clínica e teste confirmatório a Secretaria da Saúde do Estado da Bahia (SESAB) foi contatada e notificada, até o presente momento ainda não temos resultado do confirmatório, contudo se positivo a SESAB dispõe de medicamentos para tratamento da enfermidade, que será

oferecido gratuitamente ao paciente conforme protocolo estabelecido pelo infectologista atuante no SUS.

No estabelecimento estudado será realizado dia de divulgação dos resultados da pesquisa, bem como orientações para prevenção da enfermidade, e entrega de material informativo.

5. RESULTADOS

Cento e setenta e nove amostras de soro bovino coletadas, composta por machos e fêmeas superiores a vinte e quatro meses, e não vacinadas; foram submetidas ao teste de triagem e testes confirmatórios demonstrados na tabela (01). Destas 40 foram reagentes ao teste de triagem (22%) e 25 positivas no teste confirmatório apresentando frequência de 14% da amostragem.

Avaliação sorológica através técnica AAT, SAL, 2-ME e FC para bovinos abatidos em frigorífico situado na cidade de Itabuna, Bahia.

Exame Sorológico	Resultado	Amostras	Frequência %
AAT1	Reagente	62	34,6
	Não reagente	117	65,4
AAT2	Reagente	39	21,8
	Não reagente	140	78,2
2-ME	Reagente	34	19,0
	Não reagente	145	81,0
SAL	Reagente	93	52,0
	Não reagente	86	48,0
SAL/2-ME	Positivos	25	14,0
	Negativos	154	86,0
FC	Positivos	25	14,0
	Negativos	154	86,0
Total		179	100,0

Tabela 2: Avaliação sorológica através técnica AAT, SAL, 2-ME e FC para bovinos abatidos em frigorífico situado na cidade de Itabuna, Bahia. Fonte: autoria.

Os animais foram inicialmente triados com a realização do AAT e amostras enviadas para o Instituto biológico de São Paulo para teste confirmatório, foi realizada outra triagem das amostras e os dados de sensibilidade e especificidade diferiram, no qual o AAT1 que foi o primeiro a ser realizado indicou 84.62% de sensibilidade 73.86% de especificidade 35.48% de valor preditivo positivo, 96.58 de valor preditivo negativo e índice *Kappa*, que indica a concordância com o teste confirmatório de 0.3713. Já o AAT 2 apresentou melhor desempenho com 100% de

sensibilidade, 90.91% de especificidade, 64.1% de valor preditivo positivo, 100% de valor preditivo negativo e índice *Kappa* referente a 0.7364.

Verifica-se que em relação ao TFC e SAL/2ME ambos os testes detectaram as mesmas amostras como positivas. Entre o SAL e 2ME não houve a mesma concordância, o SAL detectou aglutinação em 52% dos reagentes enquanto o 2ME apenas 19% fato que se justifica pelas características de sensibilidade e especificidade de cada teste.

Na tabela (03, 04, 05, 06,07) são demonstrados na tabela de contingencia o resultado do teste em relação ao resultado final de cada bovino avaliado sorologicamente. Considerou padrão ouro o resultado do SAL/2ME e TFC juntos.

É possível verificar que o teste AAT1 apresentou 22 verdadeiros positivos (VP), 40 falsos positivos (FP), 4 falsos negativos (FN), e 113 verdadeiros negativos VN.

AAT1			
Padrão ouro			
	POSITIVO	NEGATIVO	
POSITIVO	22	40	62
NEGATIVO	4	113	117
TOTAL	26	153	179

Tabela 3: Resultado do AAT1 frente ao resultado confirmatório. Fonte: autoria

O teste AAT2 realizado por profissional diferente do AAT1, em local, e com reagentes diferentes, também de acordo recomendação técnica do MAAPA; apresentou 25 VP, 14 FP, 0 FN, 140 VN.

AAT2			
Padrão ouro			
	POSITIVO	NEGATIVO	
POSITIVO	25	14	39
NEGATIVO	0	140	140
TOTAL	25	154	179

Tabela 4: Resultado do AAT2 frente ao resultado confirmatório. Fonte: autoria

O teste SAL isoladamente, levando em consideração apenas aglutinação ou turvação obteve 25 VP, 66 FP, 0 FN, 88 VN.

SAL			
Padrão ouro			
	POSITIVO	NEGATIVO	
POSITIVO	25	66	91
NEGATIVO	0	88	88
TOTAL	25	154	179

Tabela 5: Resultado SAL frente aos confirmatórios. Fonte: autoria

O 2ME levando em consideração os mesmos critérios do SAL apresentou 25 VP, 9 FP, 0 FN, 145 VN.

2ME			
Padrão ouro			
	POSITIVO	NEGATIVO	
POSITIVO	25	9	34
NEGATIVO	0	145	145
TOTAL	25	154	179

Tabela 6: Resultado do 2ME frente ao TFC. Fonte: autoria

Já os testes confirmatórios: o teste 2ME associado ao SAL obteve 25 VP, 0 FP, 0 FN, 154 VN. E o Fixação de complemento 25 VP, 0 FP, 0 FN, e 154 VN.

2ME/SAL			
Padrão ouro			
	POSITIVO	NEGATIVO	
POSITIVO	25	0	25
NEGATIVO	0	154	154

TOTAL	25	154	179
--------------	-----------	------------	------------

Tabela 7: Resultado do teste 2ME/SAL frente ao TFC. Fonte: autoria

Teste Fixação de complemento			
Padrão ouro			
	POSITIVO	NEGATIVO	
POSITIVO	25	0	25
NEGATIVO	0	154	154
TOTAL	25	154	179

Tabela 8: Resultado do TFC frente ao 2ME/SAL. Fonte: autoria

A partir destes dados foram calculados os valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, e índice *Kappa*

Teste	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	<i>Kappa</i>
AAT1	84.62%	73.86%	35.48%	96.58%	0.3713
AAT2	100%	90.91%	64.1%	100%	0.7364
SAL	100%	57.14%	27.47%	100%	0.2714
2-ME	100%	83.33%	73.53%	100%	0.7599
SAL/2ME	100%	100%	100%	100%	1
TFC	100%	100%	100%	100%	1

Tabela 9: Estatística epidemiológica dos testes empregados para diagnóstico sorológico de Brucelose em bovinos 95% de confiança.

Quanto ao questionário epidemiológico e o resultado sorológico dos quarenta e um indivíduos que trabalham no frigorífico, um foi reagente para a enfermidade, com base nas respostas ao questionário epidemiológico calculou-se a *Odds ratio* com $P > 0,1$ (TABELA 10).

Questões	Expostos	Reagente	Frequência dos expostos %	<i>Odds ratio</i>	P-valor
Realiza função de magarefe e agropecuária	8	0	19,51	3,77	0,3998

Realiza função administrativa na área ou trabalha na área externa do frigorífico	5	0	12,20	6,16	0,2899
Sempre trabalhou como magarefe	26	1	63,41	1,23	0,6837
Teve contato com restos parto ou aborto de animais domésticos	18	0	43,90	1,26	0,697
Tem contato direto com sangue de animais domésticos	35	1	85,37	0,4	0,4524
Contato indireto com sangue de animais domésticos	5	0	12,20	6,16	0,2899
Realizou ou realiza vacinação contra brucelose	7	0	17,07	4,3	0,3636
Fez consumo de leite não fervido ou pasteurizado	20	1	48,78	2,2	0,4829
Ingeriu derivados de leite não fervido ou pasteurizado	31	1	75,61	0,7	0,6155
Ingeriu de carne bovina mal passada	30	0	73,17	0,38	0,499

Tabela 10: Avaliação dos fatores de risco em relação a Brucelose para indivíduos que trabalham em frigorífico

O indivíduo reagente para Brucelose ao responder o questionário epidemiológico, afirmou ter dores articulares crônicas, não relata episódio de hipertermia e sudorese intensa, bem como nega qualquer alteração reprodutiva sua ou da conjuge.

6. DISCUSSÃO

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) foi criado em 2001 e vem sendo adequado ao longo dos anos. Pesquisas (ANTONIASSI et al., 2008; MACEDO et al., 2019; VIANA et al., 2010) demonstram a ocorrência da enfermidade nos estados, sinalizando a necessidade de melhorias no controle, para que o objetivo de erradicação seja alcançado.

Nesta pesquisa 14% da amostragem foi positiva para a enfermidade, vale ressaltar que este número foi em apenas um frigorífico da região, este dado traz preocupação tanto para a ocorrência da doença, como por ser animais de abatedouro com Serviço de Inspeção Estadual (SIE) cujo produto será consumido pela população. Alves et al. (2009) ao avaliar a situação da Brucelose na Bahia encontrou prevalência de 0,66% ao analisar 10.803 animais, sendo que desta prevalência o circuito Sul, caracterizado por Porto Seguro, Caravelas, Ilhéus foi de 5,75%.

De acordo o RISPOA (BRASIL, 2017c) animais direcionados a produção de leite, e de carne; devem ser monitorados para Brucelose, e quando o animal for reagente deve ser eutanasiado ou abatido contudo observa-se que a frequência de diagnóstico por parte das fazendas produtoras não ocorre já que animais positivos nesta pesquisa foram encaminhados para o abate.

O RISPOA (2017c) prevê ainda a condenação de carcaça e órgão quando afetados e apresentem lesões compatíveis e caso os animais também estejam sororreagente. Se no exame *ante mortem* o animal estiver febril e seja sororreagente devem ser abatidos separadamente e encaminhados para Departamento de Inspeção Final (DIF), na presente pesquisa em nenhum dos abates acompanhados para a coleta de amostras foi visualizada a aferição da temperatura dos animais e todos os animais amostrados, incluindo os positivos passaram pelo fluxo normal da linha de abate; os dados corroboram com Viana (et al., 2010) que realizou trabalho similar em abatedouros de Serviço de Inspeção Federal (SIF), e evidenciou a ineficiência do diagnóstico clínico em abatedouro.

Pelas normas do Regulamento de inspeção, já citado, do animal reagente deve ser condenado o úbere, o trato genital e o sangue. Em trabalho realizado por Macedo et al (2019) confirmou-se a infecção por *Brucella spp.* em animais que apresentaram bursite. Portanto não é totalmente eficiente apenas a inspeção de órgãos e carcaças, uma vez, que a enfermidade pode não apresentar sinais característicos, e que a confirmação só ocorrerá através de testes laboratoriais. Assim sendo, todos as fêmeas encaminhadas para abate devem ter sido obrigatoriamente vacinadas, fato que não ocorreu nas 179 fêmeas avaliadas nesta pesquisa. Demonstrando tanto falha na fiscalização de propriedades que não realizam a vacinação, quanto do abatedouro que recebe e abate animal não vacinado. Fato este que coloca toda a população em risco, e favorece a manutenção desta bactéria no ambiente.

O teste de triagem para Brucelose é o AAT, um teste rápido, e que não exige ampla estrutura, apresenta boa sensibilidade isto é a capacidade de detectar positivos ainda que entre este haja falsos positivos, já que a especificidade do teste é baixa, porém, em se tratando da saúde pública, a detecção de possíveis positivos já é muito importante para evitar o encaminhamento deste animal para o abate.

Ao realizar o AAT verificou-se que o AAT1 e AAT2 apresentaram diferenças quanto a capacidade de detecção, apesar dos testes serem realizados como sugere as normas do MAPA, Mathias e Bertoli (2010) em estudo comparativo entre as técnicas encontrou 99,6% de sensibilidade e 83,9% de especificidade, Coelho Greve et al. (2017) encontrou 100% de sensibilidade: e 95% de especificidade, as características do teste podem variar de acordo a calibragem de equipamentos, armazenamento do antígeno e prática na realização do procedimento, assim apesar de ser um excelente teste, a variação das características apresentadas confirma que todos estes fatores em relação a técnica devem ser avaliados e que os confirmatórios são sempre essenciais.

O teste SAL apresentou uma sensibilidade de 100%, porém baixa especificidade 57.14%, e baixo índice *Kappa* 0.2714 em relação ao padrão ouro, quando comparado ao 2ME, que apresenta mesma sensibilidade e boa especificidade 83.33%, de acordo norma técnica do MAPA (BRASIL, 2017d) no 2ME as imunoglobulinas IgM são quebradas evitando ligações não específicas, estes dados confirmam a recomendação para que estes testes sejam realizados juntos. Quando observamos os valores dos testes associados estes apresentaram níveis

máximos de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e índice *Kappa* igual a 1 não deixando dúvidas no diagnóstico. Estes valores foram superiores aos encontrados por (PAULIN et al., 2002) no qual considerou o Teste Fixação de complemento como padrão ouro para amostra de animais não vacinados, adquirindo 100% de sensibilidade 91,7% de especificidade e 94,6% de concordância entre o teste e o padrão ouro.

Os dados referentes aos testes confirmatório TFC e SAL/2ME demonstraram máxima concordância, detectando ambos os mesmos animais como positivos. De acordo com (MEIRELLES-BARTOLI; MATHIAS, 2010) a sorologia para Brucelose quando realizada através de dois testes confirmatórios apresenta maior confiabilidade; em uma pesquisa realizada por este autor foi descrito concordância de 0,86 no índice *Kappa* entre os dois testes, valor este inferior aos encontrados no presente estudo.

Quando analisamos os fatores de risco para Brucelose, 48,78% do público estudado afirma ter consumido leite cru, 75,61% já consumiu alimento proveniente de leite não pasteurizado e 73,17% já ingeriu de carne mal passada. Estes dados nos chama a atenção não só para o risco de transmissão da Brucelose, mas também de outras zoonoses. Em um estudo realizado por Paula et al., (2015) ao avaliar 80 amostras de leite não pasteurizado 10 foram positivas para *Brucella spp.* através da técnica de PCR. Confirmando assim o fator de risco. A depender do tipo de queijo há risco de infecção por *Brucella spp* dados de vários autores apresentado em meta análise por Oliveira (2018) evidenciou que a bactéria pode ficar viável por até seis meses em queijo produzido com leite contaminado e o tempo de viabilidade depende do nível de água, pH, concentração de NaCl e temperatura de estocagem.

Quanto ao contato direto com fontes de infecção 85,37% tem contato direto com sangue bovino, 43,90% já manipulou restos de parto ou aborto de animais domésticos, sendo que 63,41% dos magarefes ter atividade exclusivamente no frigorífico, 19,51% deles, além de magarefe, também realiza funções agropecuárias, inclusive 17,07% afirma já ter realizado vacinação contra Brucelose. Sendo que a vacinação deve ser realizada apenas por Profissionais da Medicina Veterinária ou pessoas que passaram pelo treinamento oferecido pela Agencia de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB)

Restos fetais são fonte importante de risco já que estudos apontam o isolamento da bactéria em placenta e fetos abortados, e como uma das vias de

transmissão pode ser através da inalação indivíduos expostos a estes fatores possui mais chances de infecção (CORBEL, 2006; MEÇA; VASCONCELOS; MORO, 2006; ANTONIASSI et al., 2008, 2016; EMY KOESTANTI et al., 2018;).

Da mesma forma realizar a vacinação contra Brucelose sem qualquer conhecimento sobre o procedimento aumenta o risco de acidente, e mesmo em situações na qual o profissional tem compreensão da enfermidade e está habilitado para tal atividade acidentes podem ocorrer promovendo a infecção, como é o caso de estudo descrito por Hyeda e Sbardellotto (2011)

Dado os fatores de risco, ao avaliar o risco de chance para a doença o teste exato de Fisher não mostrou associação significativa entre a exposição e ocorrência da enfermidade, utilizando o teste Qui-quadrado (X) os dados também não foram significativos, acredita-se que para resultados de *Odds Ratio* significativos o N amostral deve ser ampliado pois o fato de ter apenas um indivíduo com desfecho positivo dificulta os cálculos de análise. Com um N amostral maior há maior diversidade da amostra reduzindo o erro de amostragem.

7. CONCLUSÕES

Da população bovina estudada, nenhuma das fêmeas haviam sido vacinadas, da amostragem total (179), 14% (25) dos animais foram positivos para Brucelose, tanto no teste 2 mercaptoetanol quanto no teste fixação de complemento, ambos confirmatórios e preconizados pelo MAPA; portanto há infecção por *Brucella spp.* em bovinos abatidos no frigorífico situado na cidade de Itabuna Bahia.

Dos indivíduos avaliados um magarefe foi reagente para Brucelose, o qual referiu apresentar dores articulares, afirma ter realizado consumo de leite não pasteurizado, e possuir contato direto com sangue animal durante o trabalho, sendo assim, há ocorrência de infecção e exposição dos trabalhadores do frigorífico à *Brucella spp.*

Dos fatores de risco analisados, os que apresentam o maior número de indivíduos expostos são: contato direto com sangue de animais domésticos (85,37%), a ingestão de derivados de leite não pasteurizado (75,61%), ingestão de carne mal passada (73,1%), e de leite não pasteurizado (48,78%). Por conseguinte, a exposição dos trabalhadores deste frigorífico possui tanto um carácter ocupacional, quanto pela falta de informação, e ou hábito cultural através do consumo de alimentos que são fonte de risco.

Posto isto, os dados alertam para a ocorrência da Brucelose tanto entre animais quanto em ser humano, além de sinalizar a presença de fatores de risco importantes na cadeia transmissão. Reforçando a necessidade de medidas preventivas, educativas, e de controle para que o país alcance a erradicação proposta pelo PNCBET e promova garantia da saúde pública

REFERÊNCIAS

ADAB. AGENCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DA BAHIA. **Boletim de informação Zoonosológica e epidemiológica primeiro semestre de 2018**, 2018.

ADAB. AGENCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DA BAHIA. **Boletim de informação zoonosológica e epidemiológica primeiro Semestre 2019**, 2019.

ALSHAALAN, M. A. et al. Brucellosis in children: Prevention, diagnosis and management guidelines for general pediatricians endorsed by the Saudi Pediatric Infectious Diseases Society (SPIDS). **International Journal of Pediatrics and Adolescent Medicine**, v. 1, n. 1, p. 40–46, 2014.

ALVES, A. J. S. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Bahia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. SUPP.1, p. 6–13, 2009.

ANTONIASSI, N. A. B. et al. Occurrence and characterization of bovine abortion caused by *Brucella abortus* infection in southern Brazil. **Archivos de Medicina Veterinária**, v. 27, n. 3, p. 1523–1530, 2008.

ANTONIASSI, N. A. B. et al. Occurrence and characterization of bovine abortion caused by *Brucella abortus* infection in southern Brazil. **Archivos de Medicina Veterinária**, v. 48, n. 1, p. 43–49, 2016.

ASSENGA, J. A. et al. Quantitative analysis of risk factors associated with brucellosis in livestock in the Katavi-Rukwa ecosystem, Tanzania. **Tropical Animal Health and Production**, v. 48, n. 2, p. 303–309, 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa N° 50, de 24 de setembro de 2013**.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **IN 34, de 9 de setembro de 2017 Requisitos para diagnóstico de brucelose por laboratórios da Rede Mapa**.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa SDA N° 10, de 3 de março de 2017.**

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Decreto N° 9.013, de 29 de março de 2017 dispõe sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal.**

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT): Medidas compulsórias., 2017d.**

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de Bolso: Doenças infecciosas e Parasitárias, 2006.**

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Lei nº 12.401, de 28 de abril de 2011. Altera a Lei no 8.080, de 19 de setembro de 1990, para dispor sobre a assistência terapêutica e a incorporação de tecnologia em saúde no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS** **Diário Oficial da União, 2011.** Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Lei/L11265.htm>

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diário Oficial da União. Portaria N° 13, de 13 de março de 2017., 2017a.** Disponível em: <http://conitec.gov.br/images/Relatorios/Portaria/2017/PortariasSCTIE-11a14_2017.pdf>

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Ampliação de uso dos medicamentos doxiciclina, estreptomicina e rifampicina para o tratamento da brucelose humana. **Conitec Ministério Da Saúde Brasil, v. 254, p. 1–25, 2017b.**

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Investigação de casos de brucelose humana em Araguaína no Estado do Tocantins, Brasil, junho de 2008. **Boletim Eletrônico Epidemiológico, v. 12, p. 1–2, 2008.**

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Protocolo Estadual de Brucelose Humana: Manejo clínico e vigilância em saúde** **Núcleo de Comunicação DIVE/SC, 2019.**

BRASIL. **Manual Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT), 2006.**

CLEMENTINO, I. J. et al. Epidemiological situation of bovine brucellosis in the state of Paraíba, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias, v. 37, n. 5, p. 3403–3412, 2016.**

COELHO GREVE, I. et al. Estudo Comparativo Da Sensibilidade E Especificidade Dos Testes Antígeno Acidificado Tamponado (Aat) E 2-Mercaptoetanol No Diagnóstico Da Brucelose Bovina. **Revista Acadêmica: Ciência Animal, v. 5, n. 3, p. 255, 2017.**

CORBEL, Michael J. **Brucellosis in humans and animals.** World Health Organization, 2006.

DASSO, M. G. **Brucelose bovina em rebanhos leiteiros do estado do Rio Grande do Sul**, 2006.

DE ALENCAR MOTA, A. L. A. et al. Large-scale study of herd-level risk factors for bovine brucellosis in Brazil. **Acta Tropica**, v. 164, p. 226–232, 2016.

DE OLIVEIRA, L. F. et al. Seroprevalence and risk factors for bovine brucellosis in Minas Gerais State, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 5, p. 3449–3466, 2016.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. Rosenberger – **Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419p

ECKSTEIN, C. et al. Differential diagnosis of infectious reproductive diseases in sheep flocks of Mato Grosso State, Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 153, p. 158–162, 2017.

EMY KOESTANTI, S. et al. Isolation and identification of brucella suis in pigs as zoonotic disease in endemic areas of east Java, Indonesia. **African Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. Special Issue 1, p. 148–151, 2018.

FERREIRA, A. C. et al. MLVA-16 typing of Brucella suis biovar 2 strains circulating in Europe. **Veterinary Microbiology**, v. 210, n. December 2016, p. 77–82, 2017.

FILHO, N. J. R. Levantamento de Brucelose bovina utilizando Teste Anel do Leite (TAL) em propriedades dos municípios mineiros de Unaí e Buritis. **Implementation Science**, v. 39, n. 1, p. 1–15, 2014.

FOSTER, G. et al. Brucella ceti sp. nov. and Brucella pinnipedialis sp. nov. for Brucella strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n. 11, p. 2688–2693, 2007.

FREITAS, A. C. P. B. G. C. F. Pesquisa de anticorpos anti- Brucella abortus e anti- Brucella canis em cães domiciliados em propriedades leiteiras na região médio-norte de Mato Grosso Research of antibodies anti- Brucella abortus e anti- Brucella canis in dogs domiciled in dairy farms. **Scientific Electronic Archives**, v. 12, n. Id, p. 114–117, 2019.

HALLING, S. M. et al. Completion of the genome sequence of Brucella abortus and comparison to the highly similar genomes of Brucella melitensis and Brucella suis. **Journal of Bacteriology**, v. 187, n. 8, p. 2715–2726, 2005.

HELENA, M. et al. Brucella canis. inquéritos sorológico e bacteriológico em população felina. 1984.

HYEDA, A.; SBARDELLOTTO, F. Exposição acidental à vacina da brucelose. **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho**, v. 9, n. 2, p. 63–68, 2011.

JAHANS, K. L. et al. The characterisation of BruceZZa strains isolated from marine

mammals. v. 57, n. 97, 1997.

KOSGEI, P. Prevalence and Factors Associated With Brucellosis In Livestock In Baringo County, Kenya. **University of Nairobi**, 2016.

KOYUNCU, I. et al. Diagnostic potential of *Brucella melitensis* Rev1 native Omp28 precursor in human brucellosis. **Clinical immunology**, v. 43, n. 1, p. 81–89, 2018.

LAGE, A. P. et al. Brucelose bovina : uma atualização. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 32, n. 3, p. 202–212, 2008.

LOPES, L. B. et al. Provas do Antígeno Acidificado Tamponado e de Reação em Cadeia pela Polimerase no diagnóstico da brucelose bovina em animais abatidos em frigorífico de Mato Grosso. **Scientific Electronic Archives.**, v. 10, n. Id, p. 13–19, 2017.

LOURENCETTI, M. P. S. et al. High level of B19 strain detection in Brazilian cattle semen. **Tropical Animal Health and Production**, v. 50, n. 2, p. 433–439, 2018.

MACEDO, A. A. DE et al. *Brucella* -associated cervical bursitis in cattle. **Tropical Animal Health and Production**, p. 697–702, 2019.

MARIO, E. et al. **Cartilha do produtor: Brucelose**, 2006.

MATHIAS, L. A. et al. Validação interlaboratorial do teste de polarização fluorescente para o diagnóstico sorológico da brucelose bovina. **Ciencia Rural**, v. 40, n. 10, p. 2135–2140, 2010.

MEÇA, K. K. D. O. L.; VASCONCELOS, A. C.; MORO, L. Inibição de apoptose e retardo da maturação planetária: um provável mecanismo da retenção planetária na brucelose bovina (revisão de literatura). **Biosci. j**, v. 22, n. 1, p. 163–174, 2006.

MEIRELLES-BARTOLI, R. B.; MATHIAS, L. A. Estudo comparativo entre os testes adotados pelo PNCBET para o diagnóstico sorológico da Brucelose Em Bovinos. **Arq. Inst. Biol.**, p. 11–17, 2010.

MÉLO, S. K. M. et al. Brucelose Canina - Revisao da Literatura. **Ciências Veterinária Tropical**, v. 16, n. 1, p. 7–17, 2013.

MIRNEJAD, R. et al. Molecular typing of *Brucella melitensis* and *B. abortus* from human blood samples using PCR-RFLP method. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 6, n. 6, p. 3–7, 2013.

MOHAMAND, N. et al. Milk Ring Test for spot identification of *Brucella abortus* infection in single cow herds. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 1, n. 2, p. 70–72, 2014.

MOUSSA, I. M. et al. Evaluation of the currently used polymerase chain reaction assays for molecular detection of *Brucella* species. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 12, p. 1511–1520, 2011.

MUFINDA, F. C.; BOINAS, F.; NUNES, C. Prevalence and factors associated with human brucellosis in livestock professionals. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, n. 0, p. 1–10, 2017.

NAVAS-SUÁREZ, P. E. et al. First detection of *Brucella* spp. in a Clymene dolphin (*Stenella clymene*) stranded in Brazil. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 96, 2017.

OLIVEIRA, M. G. Infecção humana por *Brucella abortus* pelo consumo de queijo elaborado com leite cru e sua associação à cinética de sobrevivência de *Brucella abortus* em queijos – Revisão Sistemática e meta-análise. p. 50, 2018.

OSÓRIO, A. LUIZA A. R. et al. Brucelose e tuberculose bovina: Epidemiologia Controle e diagnóstico. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2004.

PARANÁ. Protocolo de manejo clínico e vigilância em saúde para brucelose humana no estado do paraná. **Secretaria de Estado da Saúde do Paraná. Superintendência de Vigilância em Saúde.**, n. 1^a, p. 72, 2015.

PASQUALI, A. K. S. et al. Cross-Sectional Study of *Leptospira* spp. and *Brucella abortus* in Goat Herds from Paraná State, Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, n. 1, p. 9, 2017.

PAULA, A. et al. No Title. **Veterinária e Zootecnia**, v. 23, n. 4, p. 547–560, 2016.

PAULA, C. L. DE et al. Detection of *Brucella* spp. in unpasteurized cow milk by polymerase chain reaction (PCR). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, p. 1–5, 2015.

PAULIN, L. M. et al. Estudo comparativo dos testes 2-Mercaptoetanol e Reação de Fixação Do Complemento. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 4, p. 41–47, 2002.

QUEIPO-ORTUÑO, M. I. et al. Rapid Diagnosis of *Brucella* Epididymo-Orchitis by Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay in Urine Samples. **Journal of Urology**, v. 176, n. 5, p. 2290–2293, 2006.

RIBEIRO, M. G. et al. Brucelose eqüina: aspectos da doença no Brasil. **Brasil Reprodução Animal**, v. 32, n. 2, p. 83–92, 2008.

RIGUEIRA, L. L. et al. Epidemiological study of swine brucellosis in household farms in Federal District of Brazil. v. 13, p. 87–91, 2019.

SCHNEIDER, R. C. et al. Prevalence of brucellosis and risk factors associated with its transmission to slaughterhouse employees in the Cuiaba metropolitan area in the state of Mato Grosso. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 5, p. 2367, 2013.

SCHOLZ, H. C. et al. *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, n. 4, p. 801–808, 2010.

SKENDROS, P.; BOURA, P. Immunity to brucellosis. **OIE Revue Scientifique et Technique**, v. 32, n. 1, p. 137–147, 2013.

SOARES, C. DE P. O. C. et al. Prevalence of Brucella spp in humans. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 23, n. 5, p. 919–926, 2015.

VATANKHAH, M. et al. Recombinant Omp2b antigen-based ELISA is an efficient tool for specific serodiagnosis of animal brucellosis. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 4, p. 979–984, 2019.

VIANA, L. . et al. Prevalência de lesões sugestivas de brucelose em bovinos abatidos no Estado do Pará, Brasil. **Pubvet**, v. 77, n. 24, p. 517–520, 2010.

VOLKWEIS, F. S. et al. Detection of Brucella canis in blood, urine and seminal fluid of a naturally infected dog by PCR. **Revista Brasileira de Medicina Veterinaria**, v. 40, p. 1–7, 2018.

ZHANG, N. et al. Brucellosis awareness and knowledge in communities worldwide: A systematic review and meta-analysis of 79 observational studies. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 5, p. 1–20, 2019.

APÊNDICE

Questionários

Questionário A-Informações sobre os animais

Nº do questionário _____

Data da coleta: ____/____/____

Cidade e propriedade de origem dos animais:

Nº de Machos _____ Idade: Valor mínimo _____ máximo _____

Nº de Fêmeas _____ Idade: Valor mínimo _____ máximo _____

Vacina B19 RB51

Algum animal apresentando edema de testículos? Se sim identificar a amostra/ nº da amostra:

Questionário B-Informações sobre trabalhador (a)

Termo de consentimento livre e esclarecido

Você está sendo convidado (a) para participar do projeto de pesquisa “**Investigação do potencial de risco à *Brucella spp.* e ameaça à saúde pública em frigorífico situado em uma cidade na região sul da Bahia**”, de responsabilidade da mestranda do programa de ciência animal da Universidade Estadual de Santa Cruz, Thaise Marques Alves mediante orientação da pesquisadora Poliana de Castro Melo. Esta pesquisa busca identificar a sanidade do trabalhador em relação a Brucelose, uma doença que tem tratamento e quanto mais cedo é diagnosticada menos danos ao corpo e desconforto causará ao indivíduo, em caso de resultado positivo o indivíduo será orientado pela equipe médica do projeto. O projeto pretende promover discursões e orientações sobre a doença para aqueles que desejarem. Os resultados desta pesquisa servirão de base para prevenção desta doença entre os trabalhadores e na sociedade como um todo. A participação neste projeto beneficiará diretamente o indivíduo participante ao oportunizar que gratuitamente seja realizado exame para investigar a Brucelose, e que em caso de diagnóstico positivo será encaminhado através da Unidade Técnica de Zoonoses para tratamento via Sistema Único de Saúde previsto na lei 12.401/2011. Caso haja algum impasse e o SUS não disponibilize o tratamento, para os indivíduos diagnosticados com brucelose, o mesmo será garantido pela pesquisa. Assim estes são os benefícios ao participar. Contudo, para a participação será necessário responder algumas perguntas, e permitir a coleta de sangue que será realizada através de venopunção, apesar deste procedimento representar riscos de tempo de coleta prolongado e desconforto, estes e outros riscos serão minimizados ao ser executado por profissional capacitada e habilitada que zelará pela sua integridade. A amostra coletada será enviada para laboratório privado e no prazo máximo de 24 meses será descartada pelo Laboratório. A amostra será utilizada para realização dos testes: Antígeno Acidificado Tamponado e Soroaglutinação em Tubo para

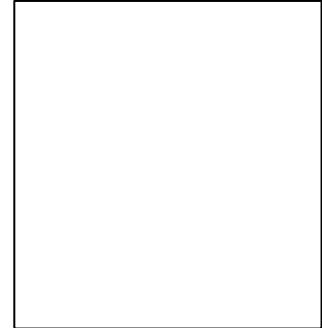
investigação da Brucelose. O procedimento de coleta de amostras e dados não acarretará nenhum custo ao participante, mas, caso haja o participante poderá contatar a equipe do projeto e o ressarcimento será avaliado se confirmado o pedido será concedido, bem como ocorrerá se o participante julgar pertinente exercer o direito a indenização. Após ser esclarecido (a) sobre o projeto, e as dúvidas serem elucidadas, ciente que as informações sobre a sua identidade não serão reveladas caso aceite fazer parte do estudo, e que a sua participação é voluntária obtendo plena liberdade de se recusar participar da pesquisa ou retirar amostra coletada e seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, assine ou realize impressão digital ao final deste documento, que consta em duas vias. Uma via pertence a você e a outra a pesquisadora responsável.

(Participante)

Número de registro do participante

Thaise Marques Alves
Contato: 77999441655, thaisemarquesalves@gmail.com

Testemunha 1



Nº do questionário _____ sexo M F

Espaço para impressão datiloscópica

Data da coleta: ____/____/____

Cidade _____

Já trabalhou com animais ou produtos de origem animal antes deste trabalho?

Sim Não

Local

Fazenda abatedouro açougue empresa de produtos lácteos

Canil Zoológico Outros

Qual espécie animal?

Bovinos Caprinos Ovinos Suíno

Equinos ou moares Bubalinos Cães Outros

Já manipulou algum destes materiais?

Restos de parto ou de aborto de algum animal. Qual animal? _____

Secreção vaginal de animais ou secreção após o aborto Qual animal? _____

Sangue durante a castração de touros ou sangria. Qual animal? _____

Vacina contra brucelose.

B19 RB51

Durante a vacinação coma a agulha ou o líquido da vacina?

Nunca manipulei nenhum destes materiais

Qual destes alimentos você já consumiu?

- Leite cru Iogurte, coalhada, caseiros
- Queijo fresco, queijo caseiro Carne mal cozida ou mal assada

Você já ouviu falar sobre Brucelose ou febre de Malta?

Sim Não

Você acha que a Brucelose é uma doença que pode contaminar humanos?

Sim Não

Dos alimentos abaixo algum deles pode transmitir Brucelose?

Sim, leite cru

Sim, Queijo fresco, queijo caseiro

Iogurte, coalhada, caseiros

Carne mal cozida ou mal assada

Não, nenhum

Dos materiais acima citados, se contaminados algum deles poderia transmitir a Brucelose para humanos?

- Restos de parto ou de aborto de algum animal.
- Secreção vaginal de animais ou secreção após o aborto
- Sangue durante a castração de touros ou sangria
- Vacina contra brucelose.
- Não nenhum destes

Dos sintomas abaixo qual ou quais deles você já sentiu?

- Febre recorrente com sudorese durante a noite
- Dor e enfraquecimento das articulações “nas juntas, nas costas”
- Dor na região pélvica, infertilidade
- Aborto espontâneo, dificuldade para engravidar
- Dor de cabeça, no abdômen e nas costas
- Nunca apresentou nenhuma destes sintomas

