



unopar

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO DE RUMINANTES**

PATRICIA APARECIDA MATOS DE OLIVEIRA

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI- *BRUCELLA OVIS* EM
OVINOS NO ESTADO DO PARANÁ E COMPARAÇÃO DAS
TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO IDGA E ELISA**

**ARAPONGAS
2016**

PATRICIA APARECIDA MATOS DE OLIVEIRA

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI- *BRUCELLA OVIS* EM
OVINOS NO ESTADO DO PARANÁ E COMPARAÇÃO DAS
TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO IDGA E ELISA**

Dissertação apresentada à UNOPAR, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Produção de Ruminantes.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho.

ARAPONGAS

2016

Ficha catalográfica elaborada, com dados fornecidos pelo (a) autor (a)
Biblioteca UNOPAR / Araçongas - Maria Luci Juliani Grano CRB – 9/776

OLIVEIRA, Patrícia Aparecida Matos de

Anticorpos anti- *Brucella ovis* em ovinos no Estado do Paraná e comparação das técnicas de diagnóstico IDGA e ELISA. Araçongas: UNOPAR, 2016. 38p.

Orientador: Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho.

Dissertação (Mestrado) UNOPAR - Medicina Veterinária - Saúde e Produção de Ruminantes, 2016.

1. Medicina Veterinária - Dissertação de mestrado – Unopar. 2. Saúde e Produção de Ruminantes. 3. Brucelose – ovinos . 4. Ovinos – desordens reprodutivas. 5. Epididimite. 6. Brucelose – ovinos- Estado do Paraná. I. Cunha Filho, Luiz Fernando Coelho. II. Título.

CDU: 619:636

PATRICIA APARECIDA MATOS DE OLIVEIRA

PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI- *BRUCELLA OVIS* EM OVINOS NO
ESTADO DO PARANÁ E COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO
IDGA E ELISA

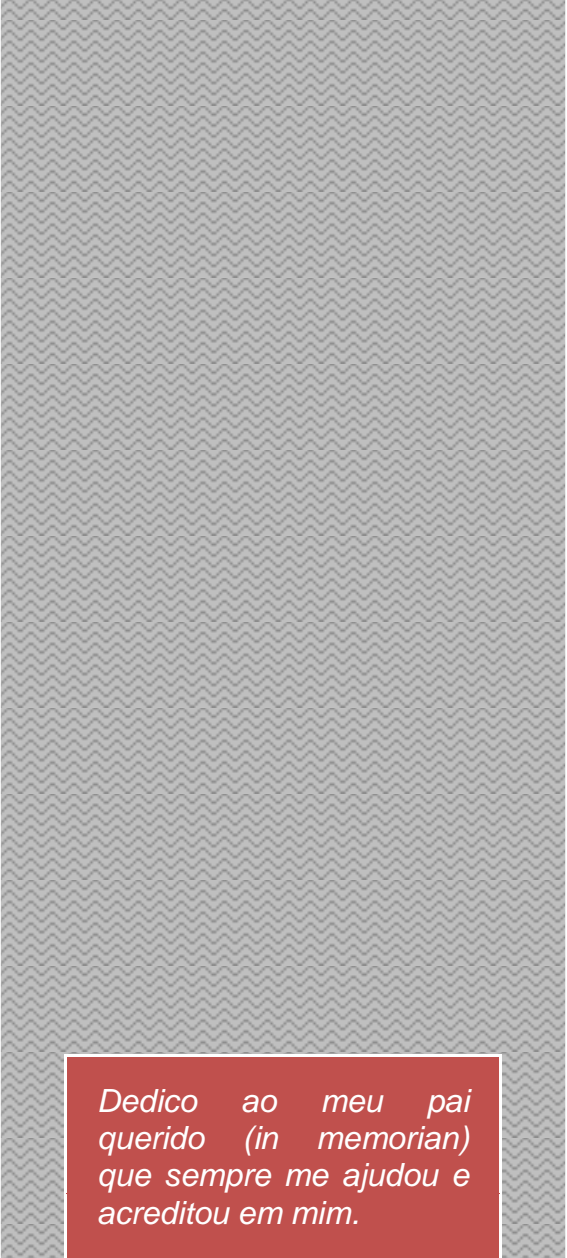
Dissertação apresentada à UNOPAR, no Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes, área e concentração em Saúde Animal como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre conferida pela Banca Examinadora formada pelos professores:

Prof. Dr. Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho
UNOPAR

Prof. Dr. Werner Okano
UNOPAR

Prof. Dra. Michele Lunardi
UNIC

Arapongas, 07 de junho de 2016.



*Dedico ao meu pai
querido (in memoriam)
que sempre me ajudou e
acreditou em mim.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, que se não fosse pela vontade dele eu não estaria aqui hoje.

Nestes dois anos de muito esforço e dedicação, momentos difíceis muitas vezes de choro, por vezes de alegria outra de tristezas, gostaria de agradecer a todos que me ajudaram de maneira direta e indireta, dedico minha conquista e esboço minha gratidão.

Primeiramente aos meus pais, Leônidas (*in memoriam*) e Elizete que sempre me apoiaram cada um à sua maneira, mas com muito amor.

Ao meu marido que sempre me incentivou a voltar a estudar e seguir meu caminho. As minhas filhas queridas, Nicolle e Isadora que me dão ânimo a cada dia para continuar a buscar algo melhor.

Ao meu querido orientador Prof. Dr. Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho que além de mestre foi um grande amigo que me ajudou nas horas difíceis com conselhos e puxões de orelha, que teve paciência para me ensinar e para me ouvir. Obrigada pela confiança depositada em mim.

Ao prof. Dr. Luiz César da Silva que me ajudou no meu trabalho de laboratório sempre se mostrando muito solícito e amigo.

Ao prof. Dr. Werner Okano que nos impulsionou a querer melhorar cada vez mais nosso trabalho.

Ao prof. MSc. Flávio Antônio Barca Junior que nos auxiliou nos dados estatísticos.

A aluna de iniciação científica Nayara Emily e a aluna de mestrado Maria Carolina Sbizera que com muita dedicação e paciência me ajudaram a concluir esta missão. Aos alunos João Sartori, Guilherme Muschau e Thiago da Rocha Silva que ajudaram com muito empenho a conclusão deste trabalho.

A Ana Sue Sammi mestranda em Ciência Animal da UEL que colaborou com o diagnóstico do ELISA, mostrando-se muito solícita.

A todos professores e colaboradores do mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes.

*Tudo posso naquele que me fortalece.
(Filipenses 4:13)*

OLIVEIRA, PATRÍCIA APARECIDA MATOS. PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI- *BRUCELLA OVIS* EM OVINOS NO ESTADO DO PARANÁ E COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO IDGA E ELISA. 2016.

Dissertação de Mestrado Acadêmico em Saúde e Produção de Ruminantes (Mestrado Acadêmico em Saúde e Produção de Ruminantes) - Universidade Norte do Paraná. Arapongas, 2016.

RESUMO

A brucelose ovina é uma enfermidade infecciosa, causada por bactérias do gênero *Brucella* spp., responsáveis por desordens reprodutivas nos pequenos ruminantes. Foi pesquisada a presença de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos no estado do Paraná e comparação das técnicas de diagnóstico IDGA e ELISA. Foram coletadas amostras de sangue de 728 animais, procedentes de 15 propriedades, provenientes das seis principais mesorregiões produtoras de ovinos do estado do Paraná. Para detecção de anticorpos anti *B. ovis*, utilizou-se a técnica de Imunodifusão em Gel Ágar (IDGA) com emprego do antígeno extraído da bactéria *Brucella ovis*, amostra Reo 198, kit produzido pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). Para comparação das técnicas utilizou-se 188 amostras representativas de todas as propriedades com inclusão dos reprodutores, foi então realizado o teste Imunoensaio Enzimático (ELISA). Os resultados demonstraram uma ocorrência de 0,27% (2/728) na pesquisa de anticorpos pelo método IDGA, e observou-se ainda no método ELISA 1,60% (3/188) de ovinos positivos, sendo 27,13% (51/188) de suspeitos e 69,98% (131/188) negativos. Entretanto, a análise estatística pelo índice Kappa não evidenciam concordância entre eles. Conclui-se que apesar da baixa ocorrência de ovinos soropositivos nos dois testes, a infecção está presente no rebanho paranaense, e que não existe concordância entre os testes de diagnóstico IDGA e ELISA.

PALAVRAS-CHAVE: Brucelose ovina, desordens reprodutivas, epididimite.

OLIVEIRA, PATRÍCIA APARECIDA MATOS. SEARCH FOR ANTIBODIES TO BRUCELLA OVIS IN SHEEP IN THE STATE OF PARANÁ AND COMPARISON OF DIAGNOSTIC TECHNIQUES AGID AND ELISA.2016.

Dissertação de Mestrado Acadêmico em Saúde e Produção de Ruminantes (Mestrado Acadêmico em Saúde e Produção de Ruminantes) -Universidade Norte do Paraná.Arapongas,2016.

ABSTRACT

Ovine brucellosis is a disease caused by infectious bacteria of the genus *Brucella* spp., responsible for reproductive disorders in small ruminants. The goal was the research of anti-*Brucella ovis* antibody sheep in the State of Paraná and compare diagnostic techniques AGID and ELISA. Blood samples were collected of 728 animals from 15 properties, from the six main sheep producing mesoregions of Paraná State. For the detection of antibodies to *B. ovis*, using the Agar Gel Immunodiffusion technique (AGID) with employment of Antigen extracted from the bacterium *Brucella ovis* Reo 198, sample kit, produced by the Institute of Technology of Paraná (TECPAR). For comparison of the techniques we used 188 representative samples of all properties with inclusion of the breeders, was then performed testing Enzyme Immunoassay (ELISA). The results showed a 0.27% (2/728) for the presence of antibodies by the AGID TEST, and still observed in the ELISA method 1.60% (3/188) of sheep, being 27.13% (51/188) of suspects and 69.98% (131/188). However, the statistical analysis by the Kappa index shows no correlation between them. It is concluded that despite the small number of positives sheep in two tests, the disease is present in the herd of Paraná, and that there is no correlation between the testes de diagnosis AGID and ELISA.

Keywords: brucellosis, sheep, sheep, reproductive disorders, epididymitis

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ICSP-Comitê International de Sistemática de Procariotas (International Committee on Systematics of Procaryotes)

WHO-Organização Mundial da Saúde (World Health Organization)

CFSPH-Centro de Segurança Alimentar e Saúde Pública dos E.U.A(The Center for Food Security & Public Health)

MAPA-Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

PNSCO-Programa Nacional de Sanidade de Caprinos e Ovinos

SEAB-Secretaria de Abastecimento

OIE- Organização Mundial de Saúde Animal (International Organization of Epizootias)

IDGA-Imunodifusão em Gel de agarose (Agarose Gel Immunodiffusion test)

PNVCO- Plano Nacional de Vigilância e Controle da Epididimite Ovina

ELISA-Ensaio Imunoenzimático (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

ARCO-Associação Brasileira de Criadores de Ovinos

FC-Fixação de Complemento

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVO.....	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICO.....	13
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1 BRUCELOSE OVINA.....	14
3.1.1 HISTÓRICO.....	14
3.1.2 AGENTE ETIOLÓGICO.....	14
3.1.3 PATOGENIA.....	15
3.1.4 SINAIS CLÍNICOS.....	16
3.1.5 EPIDEMIOLOGIA.....	17
3.1.6 DIAGNÓSTICO.....	17
3.1.7 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.....	18
3.1.8 TRATAMENTO.....	19
3.1.9. PROFILAXIA.....	19
4 REFERÊNCIAS.....	21
5. ARTIGO.....	26
5.1 PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI- <i>BRUCELLA OVIS</i> EM OVINOS DE ELITE NO ESTADO DO PARANÁ E COMPARAÇÃO DAS TÉCNICA DE DIAGNÓSTICO IDGA E ELISA	
6- CONCLUSÃO GERAL	34
7-ANEXOS.....	35

1. INTRODUÇÃO

A demanda mundial por alimentos e principalmente proteína animal é crescente, e a ovinocultura pode ser uma alternativa interessante, em pequenas áreas e com mão de obra familiar. No Brasil o número efetivo de ovinos teve um aumento de 3,4% em 2010 comparativamente a 2009 (IBGE, 2010). Dentro deste cenário a ovinocultura destaca-se no cenário nacional por apresentar grande potencial de crescimento chegando a um rebanho com mais de 14 milhões de cabeças (BRASIL, 2015). O Paraná possui o 6º maior rebanho de ovinos do país, com 530 mil cabeças (SEAB, 2014).

Frente a este novo panorama nacional, e a baixa tecnificação na criação de ovinos, o manejo sanitário torna-se extremamente importante para o controle das doenças que acometem a espécie.

Entre as patologias de grande importância na ovinocultura a brucelose ovina destaca-se por ser uma doença transmissível de caráter crônico, causando problemas reprodutivos em machos e fêmeas além de causar perdas econômicas significativas aos produtores (CLEMENTINO et al., 2007).

A doença também é conhecida como Epididimite contagiosa dos carneiros ou Epididimite ovina. Nos machos a infecção pode causar epididimite, orquite, infertilidade, queda na qualidade do sêmen e motilidade espermática diminuída, nas ovelhas podem ocorrer abortos, placentite e nascimento de cordeiros fracos (BLOBEL, 1972).

A enfermidade não existe cura, os animais acometidos pela doença devem ser sacrificados e a propriedade deve ser interditada, daí a importância da documentação sanitária na aquisição de novos animais (PUGH, 2005).

Atualmente existem métodos sorológicos para diagnóstico eficazes e seguros, como o IDGA (imunodifusão em gel de agarose) e o ELISA (ensaio imunoenzimático indireto). Em países como o Brasil, a prova de eleição utilizada para o diagnóstico da brucelose ovina é o IDGA, apresentando uma especificidade de 100% com baixo custo e de fácil interpretação. Contudo o ELISA apresenta ter uma maior sensibilidade e é um teste que possibilita testar um maior número de animais, facilitando o controle e prevenção de rebanhos suspeitos (LIRA; MEGID, 2009).

A Organização Mundial da Saúde Animal (OIE, 2016) orienta que a brucelose ovina é uma doença de notificação obrigatória, incluída na lista B.

É importante salientar que o diagnóstico sorológico deve vir

acompanhado de um exame clínico rigoroso, ressaltando-se o andrológico macroscópico.

As estimativas na União Européia de taxa de aborto, devido a brucelose, em ovelhas e a mortalidade perinatal pode variar até 8%, além disso, cordeiros nascidos no segundo e terceiro ciclo são mais leves ao desmame caracterizando uma perda de 10 a 20 dólares por ciclo perdido (PRAUD et al., 2012).

Tendo em vista que a infecção por *B. ovis* já foi identificada em diversos estados brasileiros e que a infecção está contemplada no Programa Nacional de Sanidade de Caprinos e Ovinos (PNSCO) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2004), e ainda que a infecção por *B. ovis* está presente nos municípios paranaenses, estruturou-se o presente trabalho com o objetivo de determinar a ocorrência de animais soropositivos nas mesorregiões do estado do Paraná e comparar técnicas de diagnóstico de IDGA e ELISA.

2. OBJETIVO

2.1. OBJETIVO GERAL

Determinar a presença de anticorpos anti –*Brucella ovis* em ovinos nas mesorregiões produtoras de ovinos do estado do Paraná.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Comparar as técnicas de IDGA e ELISA para diagnóstico de *Brucella ovis*.
- Avaliar faixa etária que mais acomete os animais
- Avaliar se o sexo teve influência na aparição da doença
- Avaliar fatores relacionados à produção, reprodução e manejo sanitário.
- Comparar a frequência de animais soropositivos nas diferentes faixas etárias.

3.REVISÃO DE LITERATURA

3.1 BRUCELOSE OVINA

3.1.1-Histórico

A brucelose em ovinos é uma doença de distribuição mundial. A primeira descrição da infecção foi feita por BUDDLE & BOYES em 1953. Em 1956, BUDDLE isolou estirpes de *Brucella* sp. na Nova Zelândia e Austrália recebendo a denominação de *Brucella ovis*.

No Brasil, a infecção de ovinos por *Brucella ovis* foi inicialmente descrita no Rio Grande do Sul por Ramos et al. (1966) e Blobel et al. (1972) que realizaram o isolamento do agente no epidídimo de carneiros.

3.1.2 Agente etiológico

A *Brucella ovis* tem sido apontada como o principal agente causador de problemas reprodutivos em ovinos em países da América latina e do norte, Europa, Oceania (WHO, 2000). As perdas econômicas são principalmente devido a queda na fertilidade, e as taxas de falhas reprodutivas dependem da extensão das lesões. Quando apenas um testículo está envolvido, as taxas de concepção podem ser de até 70% (WHO, 2000).

A *Brucella ovis* um microrganismo não zoonótico, intracelular facultativo, coloniza células do sistema macrocítico linfocitário, que provoca doença crônica em ovinos conhecida como Epididimite Contagiosa dos Carneiros ou Epididimite Ovina (QUISPE et al., 2002).

O gênero *Brucella* spp. inclui espécies *B.mellitensis* (caprinos), *B.abortus* (bovinos), *B.suis* (suínos), *B.canis* (cães), *B.neotomae* (ratos do deserto) e *B.microti* (animais selvagens) (XAVIER et al.,2009). Foram incluídas, novas espécies em animais marinhos *B. ceti* e *B. pinnipedialis* e *B. inopinata* (pneumonia) (ICSP, 2010). Cepas de *Brucella* spp., podem ser lisas ou rugosas dependendo da presença ou ausência da cadeia de polissacarídeo-O na molécula de lipopolissacarídeo (LPS). Cepas rugosas como *B. ovis* não possuem a cadeia-O. As espécies de *Brucella* spp. são pequenas bactérias Gram- negativas (0,6 X 0,6 a 1,5 µm) cocobacilares e imóveis (QUINN et al., 2005). O núcleo de LPS é uma estrutura essencial para a sobrevivência

in vivo da *Brucella*, e confirmam a hipótese de que o núcleo de LPS de *Brucella* spp. é um alvo para o desenvolvimento de vacinas (SOLER-LLORÉNS et al.,2014) .

3.1.3 Patogenia

A infecção ocorre em animais susceptíveis, nesta primeira fase os agentes bacterianos são transportados livres ou no interior de células fagocíticas, para os nódulos linfáticos. Nesta fase inicia-se a infecção e a resposta imune, sendo a resposta sorológica ausente ou muito fraca (COELHO et al.,2014).

Após a infecção por *B. ovis* nos animais susceptíveis, geralmente pelas mucosas, ocorre lenta multiplicação do microrganismo devido à propriedade de resistir à destruição intrafagocitária. Ao final do segundo mês de infecção produz-se uma bacteremia e o agente passa a localizar-se em baço, rins e fígado, onde leva ao desenvolvimento de abscessos e reações inflamatórias crônicas e assim a bactéria acaba por atingir o trato reprodutivo (LIRA, 2009). Os animais adultos são comumente os mais afetados. O reprodutor uma vez infectado pode continuar a disseminar a *B. ovis* no sêmen por dois até quatro anos, mas nas fêmeas a infecção parece ser transitória (RIDLER et al., 2006).

A transmissão sexual entre machos e fêmeas é o mecanismo mais comum de infecção pela *Brucella Ovis* no entanto, pode ocorrer em ovinos através de comportamento de sodomia. As fêmeas infectadas podem infectar cordeiros por lactação, além de eliminar as bactérias na secreção genital (BAIGÚN et al., 2000). Se as ovelhas se infectam e abortam, geralmente param de disseminar o microrganismo dentro de 2 a 4 semanas, entretanto as fêmeas que abortam com frequência parem cordeiros infectados capazes de secretar a bactéria (PUGH, 2005). Foi demonstrado em uma inoculação experimental em ovelhas em final de gestação, que cinco dias após inoculação já se detectaram anticorpos anti-*Brucella ovis* e todas as ovelhas do experimento resultaram em invasão da placenta e da glândula mamária, como consequência a excreção no leite, sugerindo um risco para os cordeiros e a possibilidade que se comportem como portadores latentes (PAOLICCHI et al.,2013).

Em gestantes sabe-se que o eritritol é uma fonte de carbono presente, na placenta de bovídeos, suídeos e caprinos que funciona como substância atrativa, respectivamente para *B. abortus*, *B. suis* e *B. melitensis*. Entretanto, a brucelose ovina observa-se baixa incidência de abortamentos, devido a um gene, que evita a entrada do

eritritol na célula e impossibilita a sua utilização como fonte de carbono necessário para sua multiplicação (BANDARA et al., 2007).

Com base na biotipagem, *B. ovis* é urease-negativa, entretanto em seu genoma possui dois agrupamentos de genes codificantes de urease com mutações, deleções e pseudogenes que sugerem sua inatividade ao teste de urease. Isso explica o fato de a infecção oral na brucelose ovina não ser importante, pois sendo urease negativa, não sobrevive à passagem pelo estômago (BANDARA et al., 2007). A *B. ovis* pode ainda contaminar embriões, na inseminação artificial com sêmen contaminado, aderindo à zona pelúcida (WOLFE et al., 1988).

3.1.4 Sinais clínicos

A brucelose ovina é uma doença infecciosa crônica, causada especificamente por *B. ovis* e caracterizada por lesões genitais em machos que podem resultar em epididimite e sêmen de qualidade variável. Isto, pode resultar em subfertilidade ou infertilidade nos machos (CARVALHO JUNIOR et al., 2010) abortamentos nas fêmeas e mortalidade de cordeiros.

A *Brucella ovis* causa infecção crônica com aumento no tamanho e na consistência dos epidídimos, com atrofias e aderências. O tempo de aparecimento dos primeiros sinais clínicos ainda não é certo (ROBLES, 1998). Em infecção experimental, as lesões clínicas começaram a aparecer de três a oito semanas após inoculação (CFSPH, 2011).

Células inflamatórias foram encontradas no sêmen dos carneiros assintomáticos, indicando que a presença de leucócitos no ejaculado é um método valioso para o rastreio de potenciais portadores de infecções no trato genital. Em uma inoculação experimental com *Brucella ovis*, as células inflamatórias foram detectadas no sêmen, mesmo antes do desenvolvimento de epididimite (CARVALHO JUNIOR, 2010).

Em carneiros jovens a infecção tem sido demonstrada, sugerindo que estes animais, logo após a puberdade, poderiam ser altamente suscetíveis ao microrganismo. As lesões de epididimite podem se desenvolver 36 dias após a exposição a *B. ovis*. (RIDLER; SMITH; WEST, 2014).

No caso de aborto, geralmente não ocorre a retenção de placenta e os cotilédones apresentam grossas placas de exsudatos de coloração branca a amarela,

edema e necrose (HOWARD, 1996). A infecção no rebanho pode apresentar sinais clínicos sutis o que dificultando o controle da enfermidade (OIE, 2009).

Na fêmea não prenhe a *B. ovis* produz vaginocervicite e endometrite, com uma conseqüente infertilidade temporária. Na fêmea gestante, a *B. ovis* produz bacteremia e reaparece no trato genital a partir da segunda metade da gestação, ocasionando placentite e morte fetal ou nascimento de cordeiros com baixo peso e afetados por uma pneumonia supurativa ou com lesões no rim ou fígado, que impedem sua sobrevivência (NOZAKI et al., 2004).

3.1.5 Epidemiologia

Inquéritos sorológicos realizados no Brasil demonstraram resultados diversos, com algumas regiões apresentando maiores frequências de animais positivos, como no Rio Grande do Norte 11, 3% (SILVA et al., 2003); em Pernambuco 17,5% (COLETO et al., 2003) e no Rio Grande do Sul 13,4% (MAGALHÃES NETO; GILTURNES, 1996). Outras pesquisas demonstram ocorrência muito baixa ou ausência sorológica, como na Paraíba 5,6% (CLEMENTINO et al., 2007); na Bahia 3,3% (SILVA et al., 2009); em Alagoas 3,1% (PINHEIRO JUNIOR et al., 2009); São Paulo 1,96% e 1,4% (RIZZO et al., 2009; RIZZO et al., 2014) e em Santa Catarina 0% (SCHAFER et al., 1997).

Estes dados demonstram que a doença está presente em vários estados brasileiros em maior ou menor ocorrência (RIZZO, 2014). Especificamente no estado do Paraná, temos poucos estudos, Reis (2005) e Cunha Filho et al. (2007), encontraram também uma baixa ocorrência de 0,9% e 1,4%, respectivamente.

3.1.6 Diagnóstico

O Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos-PNSCO através da normativa 87 de 10 de dezembro de 2004 aprovou o regulamento técnico do PNSCO, com o controle e a erradicação das doenças de caprinos e ovinos por meio de ações sanitárias e de vigilância epidemiológica executada por serviços oficiais e médicos veterinários cadastrados, entre elas a *Brucella ovis*.

Para o diagnóstico de *B. ovis* o MAPA recomenda a Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA) como teste padrão de triagem, sendo que os animais reagentes a

esse teste devem ser confirmados por meio da Fixação de complemento (BRASIL, 2004). Outros testes podem ser utilizados para o diagnóstico de brucelose ovina, como Ensaio Imunoenzimático (ELISA) indireto e competitivo, e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Para ELISA indireto são utilizados diversos kits comerciais contendo lipopolissacarídeos da parede celular das brucelas, sendo considerado de alta sensibilidade e especificidade semelhante aos testes de triagem (BRASIL, 2006).

Estudo realizado com ovinos na Nova Zelândia em condições experimentais demonstraram, para as provas de fixação de complemento, imunodifusão em ágar gel e ELISA indireto, sensibilidades de 96,3%, 91,7% e 97,2%, e especificidade de 99,3%, 100% e 98,6%, respectivamente (WORTHINGTON et al., 1984). A sensibilidade do ELISA foi de 92% em ovinos com especificidade de 99,5% (RAHMAN et al., 2013).

Em um recente estudo foi utilizado o Rbp26 que é uma proteína recombinante, completamente purificado como antígeno, resultando alta sensibilidade (100%) e especificidade (90,2%), é uma precisão global igual a 1,0, que é o valor mais elevado possível para um teste diagnóstico (FRANÇA et al., 2014).

A discrepância de resultados observados nas técnicas sorológicas, associadas à ausência de sintomatologia clínica nos animais, impossibilita a caracterização da enfermidade de forma eficiente e demonstra a necessidade de desenvolvimento de testes diagnósticos eficazes, que possibilitem o real diagnóstico da enfermidade (NOZAKI et al., 2008).

3.1.7. Diagnóstico diferencial

Em caso de alterações reprodutivas faz-se necessária a realização de diagnóstico diferencial através do isolamento bacteriano para *Actinobacillus seminis*, *Campylobacter* spp., *Histophilus somni*, *Micoplasmas*, além de sorologia para alguns vírus, como Lentivírus dos pequenos ruminantes, Língua Azul e Herpesvírus ovino tipo 2 (CARVALHO JÚNIOR et al., 2012) e protozoários, como *T. gondii* e *N. caninum*. Outros fatores não infecciosos merecem atenção no caso de aumento do volume escrotal, como: hidrocele, hematocele, varicocele, neoplasias, hérnias inguinais, inflamação dos envoltórios, criptorquidismo, espermatocelo (PASTOR, 2006), que podem ser diagnosticados pela palpação do trato reprodutivo.

3.1.8 Tratamento

Normalmente a medida de controle é o abate de todos os animais soropositivos do rebanho (PUGH, 2005). Assim, animais positivos pelo teste de IDGA e confirmados pela FC devem ser destinados ao abate sanitário, seguido de visita e interdição do estabelecimento onde ocorreu o caso (BRASIL, 2004).

3.1.9 Profilaxia

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

Propriedades que realizavam higiene nas instalações retirando as fezes, com periodicidade anual apresentaram 50% de positividade (SANTOS et al., 2013). Por outro lado, a frequência de positividade em propriedades que realizavam higiene diária e/ou mensal foi de 17,1%, sendo a higienização e a limpeza das instalações fatores importantes na prevenção da disseminação da doença devido ao fato das ovelhas infectadas eliminarem *B. ovis* nas secreções vaginais, placenta e feto abortado, e como as mucosas e a pele com solução de continuidade são portas de entrada do agente, esses materiais, permanecendo nas instalações, podem contribuir para a disseminação da infecção nos rebanhos (CLEMENTINO et al., 2007).

Como medidas de controle da brucelose ovina recomendam-se ainda a separação de machos com até um ano de idade dos carneiros sexualmente ativos, além do exame reprodutivo, através da palpação de testículo e epidídimo, com eliminação dos animais que apresentem lesões palpáveis, e realização de testes sorológicos antes do período reprodutivo, assim como os rufiões devem ser substituídos anualmente, e machos de diferentes idades devem ser criados e manejados separadamente (TRALDI, 2006). Todos os machos, principalmente os reprodutores com aumento de volume dos epidídimos, orquite e reação sorológica, devem ser eliminados. Tais medidas são utilizadas pelo Plano Nacional de Vigilância e Controle da Epididimite Ovina (PNVCEO), com exceção da vacinação, que não existe para ovinos no país.

A *Brucella* spp. sobrevive a congelamento e descongelamento. Em condições ambientais propícias, sobrevive por até quatro meses em leite, urina, água e

solo úmido (WALKER, 2003). Os desinfetantes comuns a destroem facilmente, como soluções de hipoclorito, etanol a 70%, isopropanol, iodóforos, desinfetantes fenólicos, formaldeídos, glutaraldeído e xileno. Desinfetantes utilizados em superfícies contaminadas incluem hipoclorito de sódio a 2,5%, soda cáustica a 2-3% e solução de formaldeído a 2%. Compostos de amônia quaternária não são recomendados (CFSPH, 2011).

A autoclavagem pode ser utilizada para destruir *Brucella* spp. em equipamentos contaminados (121°C por, no mínimo, 15 minutos). Esses microrganismos também podem ser inativados por calor seco (160-170°C por, no mínimo, uma hora). Fervura por 10 minutos para líquidos ou mesmo pasteurização destroem o agente (CFSPH, 2011).

Recentemente foi caracterizada a *B. ovis* mutantes atenuados que foram avaliados em ratos, em comparação com *B. melitensis*. Diferenças significativas, foram encontrados sobre a resposta imune induzida pelas vacinas. Camundongos vacinados com a *B. ovis* mutantes desenvolveram anticorpos anti-*B. ovis* e os seus níveis foram superiores aos observados em ratos vacinados com a *B. melitensis* (SANCHO et al., 2014).

5. REFERÊNCIAS

BAIGÚN, R.; CONIGLIARO, A. S.; LUNA, F. Aislamiento de *Brucella ovis* y control de reaccionantes serológicos en epididimitis ovina. **Veterinaria Argentina**, v. 7, n. 162, p.103-107, 2000.

BANDARA, A.B.; CONTRERAS, A.; CONTRERAS-RODRIGUEZ, A.; MARTINS, A.M.; DOBREAN, V.; POFF-REICHOW, S.; RAJASEKARAN, P.; SRIRANGANATHAN, N.; SCHURIG, G.G.; BOYLE, S.M. *Brucella suis* urease encoded by ure1 but not ure is necessary for intestinal infection of BALB/c mice. **BMC Microbiology**, v.7, p.57-71, 2007.

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 em 3 de mar.de 2015.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT)**: Manual técnico. Brasília, 2006. 184p.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Caprinos e ovinos**. Disponível em: <[www.agricultura.gov.br/animal/especies/caprinos e ovinos](http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/caprinos_e_ovinos), 2015>. Acesso em 10 de fev. de 2016.

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

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

BUDDLE, MB. Studies on *Brucella ovis* n. sp., a cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia. **Journal of Hygiene**, v. 54, p. 351-364, 1956.

CARVALHO, JUNIOR, C.A.; XAVIER, M. N.; COSTA, L. F.; SILVEIRA, S. S.; SANT'ANNA, F.M.; BORGES, A. M.; GOUVEIA, A. M. G.; SANTOS, R. L. Agentes infecciosos que podem promover infertilidade em machos da espécie ovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 34. p. 160-167, 2010.

CARVALHO, JÚNIOR C.A.; MOUSTACAS, V.S.; XAVIER, M.N.; COSTA, E.A.; COSTA, L.F.; SILVA, T.M.A.; PAIXÃO, T.A.; BORGES, A.M.; GOUVEIA, A.M.G.; SANTOS, R.L. Andrological, pathologic, morphometric, and ultrasonographic findings in Rams experimentally infected with *Brucella ovis*. **Small Ruminants Research**, v.102, n.2, p. 213–222, 2012.

CFSPH. The Center for Food Security & Public Health. Ovine Epididymitis: *Brucella ovis*. 2011. Disponível em:< www.cfsph.iastate.edu>. Acesso em 29 set. 2015.

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 deslançados do semiárido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 27, p.137-143, 2007.

COELHO, A.; GARCIA-DÍEZ, J.; COELHO, A.C. Brucelosis em pequenos ruminantes: etiológica, epidemiologia, sintomatologia, diagnóstico, prevenção y control. **Redvet-Ver Eletrónica Veterinária** 15, 1-31, 2014. Disponível em: <[Http://www.veterinaria.org/revistas/redvet](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet)>

COLETO, Z.F.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; MOTA, R.A. 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.551-553, 2003.

CUNHA FILHO L.F., LEUZZI JUNIOR L.A., SILVA, L.C., AGOTTANE J.V.B., OKANO W., STERZA F.M.A.; ZANIN R. Ocorrência de ovinos reagentes à prova de imunodifusão em gel ágar, para *Brucella ovis*, em propriedades da região norte do Paraná. **Revista UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 9, n.1, p. 67-70, 2007.

FRANÇA, S. A.; MOL J.P.S.; COSTA E.A.; SILVA A.P.C.; XAVIER M.N.; TSOLIS R.M.; REIS J.K.P.; PAIXÃO T.A.; SANTOS R.L. Indirect ELISA for diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 6, p. 1695-1702, 2014.

HOWARD, J.L. **Current Veterinary Therapy**. Food Animal Practice 2. Philadelphia, Saunders Company, 1996, 1008p.

ICSP, INTERNATIONAL COMMITTEE ON SYSTEMATICS OF PROCARYOTES SUBCOMMITTEE ON THE TAXONOMIA OF BRUCELLA. [Atualizado em julho de 2010]. Disponível em: <www.the-icsp.org/subcoms/Brucella.htm>. Acesso em 26 de fev. de 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da pecuária municipal 2010. 2010. v. 38. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/ppm2010.pdf>> Acesso em 10 fev. de 2015.

LIRA, N. S. C.; MEGID, J. Patogenia da brucelose ovina. **Veterinária e Zootecnia, Botucatu**, v. 12, n. 2, p.280-289, 2009.

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.

NOZAKI, C. N.; MEGID, J.; LIMA, K. C.; SILVA JÚNIOR, 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 de São Paulo. **Arquivo Instituto Biológico, São Paulo**, v.71, n.1, p.1-5, 2004.

NOZAKI, C. N. **Aspectos epidemiológicos, clínicos e avaliação dos métodos diagnósticos nas diferentes fases de evolução da brucelose em ovinos inoculados experimentalmente com *Brucella ovis***. 109 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2008.

OIE (INTERNATIONAL ORGANIZATION OF EPIZOOTICS). Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals 2009. *Ovine Epididymitis (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 out. de 2015.

OIE-Lista de enfermidades de declaração obrigatória a OIE(2016) disponível em <<http://www.oie.int>>. Acesso em 14 de junho de 2016

PAOLICCHI, F.A.; NUNEZ, M.; FIORENTINO, M.A.; MALENA, R.C.; TRANGONI, M.; CRAVERO, S.; ESTEIN, S. Respuesta humoral y consecuencias reproductivas en ovejas desafiadas con *Brucella ovis* al final de la gestación. **Revista argentina de microbiología**, v. 45, n. 1, p. 13-20, 2013.

PRAUD A.; CHAMPION J. L.; CORDE Y.; DRAPEAU A.; MEYER L.; GARIN-BASTUJI B. Assessment of the diagnostic sensitivity and specificity of an indirect ELISA kit for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. **BMC Veterinary Research**, v. 8, n. 1, p. 68, 2012.

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. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.3, p. 500-508, 2009.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. p.202

QUISPE, R.C.; RIVERA, H.G.; ROSADIO, R.A. Cinética de la infección por *Brucella ovis* en carneros durante una época de empadre. **Revista de Investigación Veterinaria de Perú**, v.13, n.1, p.61-66, 2002.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J. C.; LEONARD, F. C.; MAGUIRE, D. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**, Porto Alegre: Artmed, 2005.p.512.

RAMOS, A. A.; MIES FILHOS, A.; SCHENCK, J. A. P; VASCONCELLOS, L. D.; PRADO, O. T. G.; FERNANDES, J. C. T.; BLOBEL, H. Epididimite ovina, 27 levantamentos clínico no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.1, p.211-213, 1966.

RAHMAN, AKM.;SAEGERMAN C.;BERKENS D.;FRETIN D.;GANI M.O.;ERSHADUZZMAN M.;EMMANUEL A. Bayesian estimation of true prevalence, sensitivity and specificity of indirect ELISA, Rose Bengal Test and Slow Agglutination Test for the diagnosis of brucellosis in sheep and goats in Bangladesh. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 110, n. 2, p. 242-252, 2013.

REIS, C.G. 2005. **Incidência de ovinos machos reagentes a prova de imunodifusão em gel de ágar para *Brucella ovis* na região norte do Paraná.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Norte do Paraná, Arapongas.

RIDLER, A.L.; WEST, D.M.; STAFFORD K.J. Persistence, serodiagnosis and effects on semen characteristic of artificial *Brucella ovis* infection in red deer stags. **New Zealand Veterinary Journal**, v.54, p.85-90, 2006.

RIDLER, A. L.; SMITH, S. L.; WEST, D. M. Seroconversion and semen shedding in rams experimentally infected with *Brucella ovis*. **New Zealand veterinary journal**, v. 62, n. 1, p. 47-50, 2014.

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.In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA.2009,Belo Horizonte.ANAIS .Ciência Animal Brasileira, 2009,p.591-596.

RIZZO, H.; GREGORY, L.; BERARDI, F.; 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. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v.81, n.2, p.99-106, 2014.

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, 1998.

SANTOS F.A.; HIGINO S.S.S.; AZEVEDO S.S.; COSTA D.F.; FARIAS A.E.M.; ALVES F.A.L.; PAULIN L.M.; ALVES C.J. Epidemiological characterization and risk factors associated with *Brucella ovis* infection in sheep in the Brazilian semiarid. 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.

SANCHO P.; TEJEDOR C.; SIDHU-MUÑOZ R. S.; FERNÁNDEZ-LAGO L.; VIZCAÍNO, N. Evaluation in mice of *Brucella ovis* attenuated mutants for use as live vaccines against *B. ovis* infection. **Veterinary Research communication**, v. 45, p. 61, 2014.

SEAB- SECRETARIA DE ABASTECIMENTO DO ESTADO DO PARANÁ. Paraná investe na ovinocultura de corte. 2014. Disponível em: <<http://www.agricultura.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=5532>> Acesso em 26 de Fev. de 2015.

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

SILVA, JBA.; FEIJÓ, FMC.; TEIXEIRA, MFS.; SILVA JS. Frequência de brucelose

ovina causada por *Brucella ovis* em rebanhos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Animal** 13: 51-54, 2003.

SILVA, N.S.; BARROS, I.N.; DASSO, M.G.; ALMEIDA, M.G.Á.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.

SOLER-LLORENS P.; GIL-RAMÍREZ Y.; ZABALZA-BARANGUÁ A.; IRIARTE M.; CONDE-ÁLVAREZ R.; ZÚÑIGA-RIPA A.; LÓPEZ-GOÑI, I. Mutants in the lipopolysaccharide of *Brucella ovis* are attenuated and protect against *B. ovis* infection in mice. **Veterinary research**, v. 45, p. 72, 2014.

TRALDI, A. **Enfermidade de caprinos e ovinos: formas de controle e erradicação**. 2006. Disponível em: <<http://www.agrocentro.com.br/feinco/2006>>. Acesso em 22 de Agost. 2015.

WOLFE, D.F.; STRINGFELLOW, L.D.A.; RIDDELL, M.G.; LAUERMAN, H.; GALIK, P.K. Adherence of *Brucella ovis* to preimplantation ovina. **Theriogenology**, v.30, n.2, p.387-393, 1988.

WORLD ORGANISACION OF HEALTH ANIMAL - WHO. **Manual of standards diagnostic tests and vaccines, ovine epididymitis *Brucella ovis***. 2000. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/en_index.htm>. Acesso em 11 fev. de 2015.

WHORTIHIGTON, R.W.; WENDEL, W.; PENROSE, M.E.T. A comparison of three serological tests for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. **New Zealand Veterinary journal**, v.32, p.58-60, 1984.

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

XAVIER MN, COSTA EA, PAIXÃO TA, SANTOS RL. The genus *Brucella* and clinical manifestations of brucellosis. **Ciência Rural**. v. 39, p. 2252-2260, 2009.

5. Artigo

DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI- *BRUCELLA OVIS* EM OVINOS DE ELITE NO ESTADO DO PARANÁ E COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO IDGA E ELISA¹

Patrícia Ap. Matos de Oliveira², Luiz F. C. Cunha Filho³, Flavio A. Barca Junior⁴, Werner Okano⁵, Luiz César da Silva⁶, Maria Carolina Riccieri Sbizera⁷, Nayara Emily Viana⁸.

ABSTRACT – Oliveira P.A.M., Cunha Filho L.F.C., Barca Junior F.A. & Viana N.E. 2016. **[Detection of antibodies to *Brucella ovis* in sheep of elite in the state of Paraná and comparison of diagnostic techniques AGID and ELISA]**. Detecção de anticorpos anti- *Brucella ovis* em ovinos de elite no estado do Paraná e comparação das técnicas de diagnóstico IDGA e ELISA. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Departamento de Clínica Veterinária, Universidade Norte do Paraná, Rodovia PR-218, Km 1, Jardim Universitário, Arapongas, PR 86702-670, Brasil. E-mail: luiz.cunha@unopar.br

Brucellosis ovine is a chronic infectious disease of sheep caused by *Brucella ovis* and characterized by epididymitis in Rams, and reproductive problems in females. The detection of anti-*Brucella ovis* antibodies by AGID test, in 728 elite male and female sheep, in six meso-regions of Paraná where 0.27% (2/728) being males, reacted positively to disease. To compare the techniques were selected (188/728) males, where the results of the AGID test positives sheep and ELISA in this experiment were 1.60% (3/188) respectively. It is concluded that the ovine Brucellosis is present in elite sheep in the State of Paraná, however in a very low, therefore it is necessary to other differential diagnosis agents that are causing reproductive problems in Paraná sheep-producing properties. Under the conditions of this study, there was no correlation between the diagnostic tests of AGID and ELISA.

INDEX TERMS: *Brucella ovis*, sheep, elite, Paraná, reproductive disorders.

¹Recebido em

Aceito para publicação em

²Mestre em Saúde e Produção de Ruminantes, Universidade Norte do Paraná, Rodovia PR-218, Km 1, Jardim Universitário, Arapongas, PR, 86702-670, Brazil. E-mail: paty.vt@bol.com.

³ Departamento de Clínica Veterinária, Universidade Norte do Paraná, Rodovia PR-218, Km 1, Jardim Universitário, Arapongas, PR, 86702-670, Brazil. E-mail: luiz.cunha@unopar.br

⁴Departamento de Estatística, Universidade Norte do Paraná, Rodovia PR-218, Km 1, Jardim Universitário, Arapongas, PR, 86702-670, Brazil. E-mail: flavio.barca@unopar.br

⁵Departamento de Clínica Veterinária, Universidade Norte do Paraná, Rodovia PR-218, Km 1, Jardim Universitário, Arapongas, PR, 86702-670, Brazil. E-mail: vetwerner@gmail.com

⁶Departamento de Clínica Veterinária, Universidade Norte do Paraná, Rodovia PR-218, Km 1, Jardim Universitário, Arapongas, PR, 86702-670, Brazil. E-mail: luiz.silva@unopar.br

⁷ Mestranda em Saúde e Produção de Ruminantes, Universidade Norte do Paraná, Rodovia PR-218, Km 1, Jardim Universitário, Arapongas, PR, 86702-670, Brazil. E-mail: carolsbizera@hotmail.com

⁸Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade, Norte do Paraná, Rodovia PR-218 Km 1, Jardim universitário, Arapongas, PR, 86702-670, Brazil. E-mail: naty.emily@hotmail.com

Resumo- A brucelose ovina é uma doença infecciosa crônica dos ovinos causada por *Brucella ovis* e caracterizada por epididimite em carneiros, e problemas reprodutivos em fêmeas. Foi realizada a detecção de anticorpos anti-*Brucella ovis* pela técnica de IDGA, em 728 ovinos de elite machos e fêmeas, em seis mesorregiões do estado do Paraná onde 0,27% (2/728) sendo machos, reagiram positivamente a doença. Para comparar as técnicas foram selecionados (188/728) machos, onde os resultados de ovinos soropositivos ao teste de IDGA e ELISA neste experimento, foram de 1,60%(3/188) respectivamente. Conclui-se que a Brucelose ovina está presente nos ovinos de elite no estado do Paraná, porém em uma ocorrência muito baixa, portanto é necessário diagnóstico diferencial para outros agentes que estão causando problemas reprodutivos nas propriedades paranaense produtoras de ovinos. Nas condições em que ocorreu presente estudo não houve concordância entre os testes diagnóstico de IDGA e ELISA.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Brucella ovis*, ovinos, elite, Paraná, desordens reprodutivas.

INTRODUÇÃO

A ovinocultura vem crescendo de maneira significativa em todo território brasileiro, com destaque para o sul do país, onde a produção de ovinos para corte vem ultrapassando os animais laneiros, e a forte vocação da venda de matrizes e reprodutores melhoradores para todo o território nacional.

Entende-se por ovinos de elite os animais puros de origem, registrados na Associação Brasileira de Criadores de Ovinos (ARCO) e tatuados com a palavra ARCO na orelha direita. Estes animais possuem valor agregado, sendo comercializados como reprodutores e matrizes com valores superiores aos animais comerciais, usualmente em feiras agropecuárias e leilões. Portanto, possuem principalmente um manejo nutricional diferenciado em comparação ao rebanho comercial, e também uma maior preocupação com a sanidade.

Dentre as doenças da reprodução, a brucelose ovina destaca-se, pois acomete e compromete os órgãos reprodutivos tanto de machos como de fêmeas, provocando sérios distúrbios como subfertilidade ou mesmo infertilidade e como consequência, causam prejuízos econômicos ao sistema de produção. Observa-se que no Brasil, o crescimento acelerado de rebanhos ovinos voltados para o corte e a crescente exigência do comércio internacional para o controle sanitário animal, criaram uma demanda significativa de métodos de diagnósticos eficazes para as doenças infectocontagiosas dos animais de produção (Marques 2006).

O diagnóstico da infecção por *B. ovis* é usualmente baseado no exame clínico dos ovinos, na sorologia e no isolamento bacteriano de alíquotas de sêmen ou tecido fetal abortado (Poester et al. 2013). No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) recomenda a Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) como teste padrão de triagem. Outros testes podem ser utilizados para o diagnóstico de brucelose ovina, como Ensaio Imunoenzimático (ELISA) indireto e competitivo (Brasil 2006).

O ELISA indireto é utilizado para a detecção e/ou quantificação de anticorpos em amostras de soro, com destaque em estudos epidemiológicos, permitindo o processamento de um grande número de amostras, sendo considerado mais sensível que a IDGA, entretanto com a desvantagem do custo e da maior tecnificação para sua utilização (Pinheiro et al. 2009).

A infecção por *B. ovis* já foi identificada em diversos estados brasileiros (Clementino et al., 2007 na PB; Souza et al., 2012 na BA; Machado et al., 2015 no RS; Costa et al., 2016 em MG), e está contemplada no Programa Nacional de Sanidade de Caprinos e Ovinos (PNSCO) do MAPA (Brasil 2004). No Paraná, embora tenha um dos maiores rebanhos nacionais de ovinos, e seja considerado um estado exportador de genética pela qualidade de seus reprodutores e matrizes para todo o território nacional, a soroprevalência da *B. ovis* só foi pesquisada, até o momento, na região Norte do Paraná.

Assim, objetivou-se neste estudo determinar a presença de anticorpos anti -*Brucella ovis* em ovinos de elite no estado do Paraná e comparar as técnicas de diagnóstico IDGA e ELISA.

MATERIAL E MÉTODOS

O estado do Paraná é dividido geograficamente em 10 mesorregiões. Foram colhidas 728 amostras, de 15 propriedades produtoras de ovinos de elite, das seis mesorregiões (Norte Pioneiro, Metropolitana de Curitiba, Norte Central, Oeste, Centro Oriental e Centro Sul), sendo as principais mesorregiões produtoras de ovinos do estado do Paraná. A seleção dos animais foi aleatória, onde foram selecionados de duas a três propriedades por mesorregião, em cada propriedade foram coletadas amostras dos reprodutores e das matrizes, perfazendo um total médio de 50 animais por propriedade.

Após exame clínico geral realizado em todos os ovinos, e andrológico nos machos, aplicou-se um questionário epidemiológico em cada propriedade, onde foram anotados dados referentes ao sexo, idade e raça, como também fatores relacionados à produção, reprodução e sanidade animal (Thrusfield 2004).

O trabalho de campo foi desenvolvido durante o ano de 2014. As amostras de sangue foram coletadas através de venopunção jugular, utilizando tubos tipo *Vacutainer*^R identificados. Após a coleta os tubos foram centrifugados para que houvesse a separação do soro. Em seguida, alíquotas de soro foram depositadas em microtubos de 1,5mL, devidamente identificadas, e acondicionadas à -20°C. As amostras foram encaminhadas para o laboratório de doenças

infeciosas da Unopar para a realização do teste sorológico, usou-se a técnica de Imunodifusão em Gel Ágar (IDGA) com kit de diagnóstico produzido pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). O antígeno consiste de proteínas e lipopolissacarídeos solúveis, extraídos da bactéria *Brucella Ovis*, amostra Reo 198.

O primeiro exame laboratorial a ser realizado foi o IDGA (n=728) onde a preparação do ágar noble (Difco[®]) seguiu as especificações do fabricante. A leitura foi feita com 48 e 72h após, com uso de um sistema de iluminação de luz indireta e fundo preto, sendo considerada definitiva a segunda leitura. O soro controle positivo foi a base para a leitura de teste. Após, foi realizado o segundo teste sorológico, o teste de ELISA indireto, com 20% das amostras iniciais, perfazendo 141 amostras de soros de reprodutores (n=104) e matrizes (n=37). As amostras foram submetidas ao teste ELISA-i pelo kit comercial ELISA IDEXX *Brucella ovis*. As placas de micro titulação pré-impregnadas com antígeno *Brucella ovis* foram realizadas diluições das amostras (1:200) que foram testadas e incubadas 37°C (±3°C) por uma hora. A intensidade da cor da reação foi determinada por absorbância em leitor de microplacas com comprimento de onda de 450 nm.

Os dados foram tabulados no programa Excel[®] e analisados estatisticamente no pacote Minitab 16. A análise de concordância entre as duas diferentes metodologias de diagnóstico foi realizada através do índice Kappa. Esta pesquisa seguiu as normas estabelecidas pela Comissão de Ética no uso de animais da Universidade Norte do Paraná (CEA/UNOPAR), de acordo com o protocolo nº08/14.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos dados analisados este foi o primeiro levantamento sorológico realizado em ovinos de elite no Brasil.

Dos 728 soros testados, 173 eram provenientes de machos, e, 555, de fêmeas. Entretanto, observou-se reação positiva para *Brucella ovis* no teste IDGA somente em dois machos (0,27%). A idade dos animais analisados variou de 12 a 60 meses, sendo os soropositivos de 12 e 24 meses, portanto todos os animais estavam em idade reprodutiva, fase em que a brucelose ovina tem maior probabilidade de ocorrer.

É importante ressaltar que esse é o primeiro levantamento sorológico para pesquisa de anticorpos anti-*Brucella ovis* realizados em matrizes e reprodutores de elite no Brasil. Esse resultado pode ser explicado pelo fato dos ovinos de elite serem submetidos constantemente a exames clínicos periódicos, manejo nutricional e sanitário diferenciado em comparação ao rebanho comercial. Com isso são animais que possuem uma escrituração zootécnica maior principalmente de dados reprodutivos.

O estado do Paraná apresenta poucos relatos sobre brucelose ovina, que através da análise de dados pode-se concluir uma baixa ocorrência da enfermidade no estado. Os resultados obtidos estão próximos àqueles encontrados por Cunha Filho e colaboradores (2007), em levantamento na mesorregião Norte do Paraná onde apenas 1,40% (3/213) ovinos reagiram positivamente. As fichas epidemiológicas revelaram que 90% das propriedades analisadas relataram ocorrências de abortos nos últimos 12 meses, sendo a maioria delas em índices aceitáveis de até 5% ao ano (Pugh 2005), somente uma apresentou o índice de aborto de 30%.

Os animais positivos foram oriundos da mesorregião centro oriental, onde existe um rebanho expressivo de animais de elite no Paraná, cuja parcela de ovinos analisados foi a maior, representando 28,16% do efetivo, como demonstrado no quadro 1. Este fato não denota que a mesorregião oriental tenha fatores predisponentes maiores que as outras, mas que a participação de animais dessa mesorregião foi maior em relação as demais.

Quadro 1- Número de propriedades, animais e idade média dos animais avaliados nas seis principais mesorregiões produtoras de ovinos de elite no estado do Paraná.

Mesorregião	Nº Propriedades	Nº Animais Total	% Animais por mesorregião	Nº Machos	N Fêmeas	Idade média (meses)
Centro Oriental	03	205	28,16	51	154	20,68
Centro Sul	01	56	7,70	06	50	36,89
Metropolitana de Curitiba	02	108	14,83	25	83	40,8
Norte Central	04	171	23,49	25	146	32,51
Norte Pioneiro	02	63	8,65	14	49	46,25
Oeste	03	125	17,17	52	73	48,82
Total	15	728	100,00	173	555	37,65

Foram estudados 15 rebanhos nas seis mesorregiões, mas apenas uma mesorregião (1/6) apresentou dois animais positivos do mesmo rebanho, este número baixo de animais soropositivos, como citado anteriormente, o manejo diferenciado com acompanhamento reprodutivo mais intenso destes animais pode justificar o número de rebanhos infectados. Na nossa pesquisa, apenas uma propriedade (1/6) apresentou dois animais positivos, diferente de um estudo realizado no estado de São Paulo, que observaram ovinos pertencentes a quatro rebanhos diferentes, acometendo 14,3% (4/28) das propriedades (Rizzo et al. 2014).

Existem associações positivas para ocorrência da Brucelose ovina nas propriedades, dentre eles o sistema de alimentação (confinado e semi-confinado), participação em eventos (feiras, exposições e leilões), aquisição de animais sem documentação sanitária, presença de aborto, sexo, idade. Embora as propriedades estudadas possuíssem fatores de risco conforme o Quadro 2 esta realidade não se traduziu em um número maior de propriedades positivas

Estas associações já foram avaliadas e já são descritos na literatura, o fato interessante é de que os animais positivos neste estudo pertenciam há uma propriedade com tipo de criação semi-confinado, com histórico de aborto, aquisição de animais no último ano sem documentação sanitária e participação em feiras e exposições. Estas características podem ser consideradas fatores de risco para à introdução de doenças, como a brucelose ovina conforme descrito no Quadro 2.

Quadro 2 - Fatores de risco e número de animais associados à brucelose ovina no estado do Paraná.

Fator de risco	Número total de Animais	% Total de Animais
Sistema de Criação		
Confinado	144	19,78
Semi-Confinado	584	80,22
Participação em exposições		
Não	49	6,73
Sim	679	93,27
Presença de aborto		
Não	60	8,24
Sim	668	91,76
Aquisição de animais no último ano		
Não	111	15,25
Sim	617	84,75

No quadro 3, temos a distribuição por raças das 728 amostras com predomínio da raça Dorper, Texel e Ille de France, entretanto a raça Santa Inês com 9,07%(66/728) de ovinos analisados foi a que apresentou dois animais positivos, apesar que não se pode afirmar

estatisticamente que esta raça seja mais predisponente à doença, devido ao número baixo de soropositivos. Acredita-se que estes animais sejam oriundos de estados do Nordeste, onde a brucelose ovina tem se apresentado em índices mais elevados. Simões e colaboradores (2015) encontraram em Sergipe uma moderada incidência de brucelose ovina, 21,69% em ovinos da raça Santa Inês (108/498)0, muito superior ao resultado obtido neste estudo.

Quadro 3-Número de animais e propriedades positivas de acordo com as raças analisadas no estado do Paraná.

Raça	Nº Total de Animais	Nº Animais Positivos n (%)	Nº Propriedades Positivas n (%)
Dorper	284	0	0
Ille de France	121	0	0
Lacaune	38	0	0
Santa Ines	66	2 (0,27)	1 (6,66)
Sulfok	60	0	0
Texel	139	0	0
White Dorper	20	0	0
Total	728	2	1

Neste trabalho não houve diferença significativa para idade e sexo, corroborando com os resultados de Araújo e colaboradores (2013). Com relação aos carneiros soropositivos não foi observado sinais clínicos de epididimite, que estavam em idade reprodutiva assim não foi possível relacionar os ovinos sororreagentes com os sinais clínicos observados no exame andrológico. É importante ressaltar que as propriedades analisadas relataram ocorrências de abortos, e como afirma Enstein (1999) a via venérea é uma fonte importante de contaminação que não pode ser descartada.

Em outros estados da região sul a ocorrência demonstra-se um pouco mais elevada quando analisados somente os machos reprodutores, como Santa Catarina, Schafer e colaboradores (1997) observaram 18,84% de carneiros soropositivos e no Rio Grande do Sul, de 1.638 carneiros analisados, 13,4% foram positivos a brucelose ovina (Magalhães & Giltunes 1996).

Em São Paulo, por exemplo, Marinho; Mathias (1996) não encontraram ovinos soropositivos a *B. ovis* nos testes IDGA, ELISA-I e reação de fixação do complemento, e também não observaram alterações clínicas nos 850 ovinos avaliados, assim como Chiebao (2011). Diferentemente, Rizzo 2009 e 2014 demonstraram que a incidência de ovinos em São Paulo com *Brucella ovis* foi de 1,96% (4/204) e 1,7% (5/294) respectivamente. Isto pode ser devido ao manejo adotado pelas propriedades. Neste estudo o sistema de criação semi-confinado pode ter colaborado para a disseminação da bactéria no ambiente, por meio de produtos de aborto e secreções, favorecendo o contato entre os ovinos com seus produtos biológicos.

Apesar de grande parte das propriedades apresentarem histórico de aborto não houve ovelhas reagentes a *Brucella ovis*, diferente de Alagoas onde fêmeas maiores de 24 meses, e com transtornos reprodutivos, tiveram uma ocorrência de 3,1%(18/579) (Pinheiro Junior et al. 2009). A partir desta constatação faz-se necessário o diagnóstico diferencial através de isolamento bacteriano para outras enfermidades que resultam na perda fetal durante a gestação, como *Actinobacillus seminis*, *Campylobacter spp.* *Mycoplasmas*, além de sorologia para alguns vírus como Maedi-Visna, língua azul e Herpesvírus tipo 2 e protozoários como *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* (Carvalho Júnior et al. 2012).

Um dos estados importadores de genética, com a introdução de muitos animais nos últimos anos, o Mato Grosso, apresentam 72,75% das propriedades estudadas evidência sorológica de infecção por *Brucella ovis* com uma frequência de 13,9% de animais sororreagentes, sendo que propriedades que higienizavam suas instalações com frequência e aquelas com sistema de criação extensivo a soropositividade foi estatisticamente menor (Manhezzo, Conceição & Castro 2015). Assim também no Tocantins em que um estudo de Martins e colaboradores (2013) observaram 30,08% de ovinos positivos para *Brucella ovis*, sendo que a ovinocultura não era a principal atividade e a maioria dos proprietários desconhecia a doença. A aquisição de animais oriundos de várias regiões do país para formação do rebanho local pode ter contribuído para a introdução da doença por meio de animais soropositivos, já que muitos proprietários não exigiam exames

negativos para a doença por desconhecimento.

A melhor forma de determinar o status de uma doença no rebanho é através das técnicas de diagnóstico, sendo que os meios indiretos por meio da sorologia apresentam boa acurácia e praticidade. Para o diagnóstico de *B. ovis* o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) recomenda IDGA (Brasil 2004).

Os resultados de ovinos soropositivos ao teste de IDGA e ELISA neste experimento, foram de 1,60% (3/188) respectivamente. O teste ELISA ainda apresentou 51 suspeitos (27,13%) e 134 (71,28%) negativos, que estão demonstrados no quadro 1. A comparação dos resultados foi apresentada através da taxa global de concordância entre os testes ou pelo indicador Kappa de = 0,1627 com valor de $p=0,9925$, indicando que não houve concordância entre os testes (QUADRO 1).

Quadro 1-Análise de concordância -Teste Kappa

		Teste Elisa			
	Resultado	Positive	suspeito	negativo	total
Teste IDGA	Positivo	0(0,00%)	0(0,00%)	3(1,60%)	3(1,60%)
	negativo	3(1,602%)	51(27,13%)	131(69,98%)	185(98,40%)
Total		3(1,60%)	51(27,13%)	134(71,28%)	188(100,00%)

Nesse estudo foi observado que não existe concordância entre os testes, semelhante com Nozaki et al. (2004) que ao comparar as técnicas de IDGA e Elisa também observou discrepância entre os resultados, onde 1033 soros foram testados, das amostras positivas no IDGA, 117 foram negativas e 7 suspeitas no ELISA. Dentre as negativas no IDGA 820 foram negativas e 51 suspeitas ao ELISA. Na presente pesquisa o baixo número de animais soropositivos dificultou a comparação entre os testes.

Greve et al. (2010) padronizou o teste ELISA indireto e submeteu 448 amostras ao teste, e obtiveram como resultado 11 amostras reagentes ao ELISA, mas que não foram positivas ao IDGA. Na nossa pesquisa das 188 amostras submetidas ao ELISA três foram soropositivos a brucelose ovina, assim como no IDGA das 188 amostras testadas três foram reagentes, porém foram animais diferentes de rebanhos diferentes demonstrando resultados discrepantes.

A associação de dois ou mais testes aumenta a acurácia dos resultados, essa teoria é relatada pela OIE (2000) ao preconizar que o ELISA apresenta maior sensibilidade do que o teste de imunodifusão em gel de ágar ou a fixação de complemento, porém em função de alguns resultados ELISA negativos e imunodifusão positivos, a combinação do ELISA com o IDGA resultaria em melhor desempenho da sensibilidade.

Segundo Cruz et al. (2009) a concordância entre o teste ELISA indireto e IDGA foi de 97,43%. Praud (2012), mostra em seu trabalho que o ELISA é mais sensível que o teste de Fixação de complemento, no entanto a Fixação de complemento é mais específico. Portanto a associação dos dois aumenta a especificidade e a sensibilidade mostrando que houve concordância entre os testes. Diferente dos resultados desta pesquisa onde a concordância foi zero.

No exame clínico geral e andrológico os machos do presente estudo não demonstraram alterações macroscópicas que sugerissem a epididimite, diferente de Azevedo et al. (2004) que dos 115 ovinos submetidos ao teste no estado do Rio Grande do Norte apenas 13 apresentaram reatividade ao teste, sendo que os animais haviam sido examinados e apresentavam histórico de epididimite. Em comparação entre a palpação testicular e o Elisa indireto observou-se uma soroprevalência maior no ELISA em comparação a palpação testicular, demonstrando que nem todos animais com quadro de epididimite estão infectados com *B.ovis* (Troncoso 2014).

CONCLUSÃO

Conclui-se que a Brucelose ovina está presente nos ovinos de elite no estado do Paraná, porém em uma ocorrência muito baixa, portanto é necessário diagnóstico diferencial para outros agentes que estão causando problemas reprodutivos nas propriedades paranaense produtoras de ovinos. Nas condições em que ocorreu presente estudo não houve concordância entre os testes diagnóstico de IDGA e ELISA.

REFERÊNCIAS

Araújo B.R., Costa, J.N., Souza T.S., Lima C.C.V., Leite, M.D.X., Costa Neto A.O., Anunciação A.V.M., Almeida M.G.A.R.& Lima E.B. 2013.Seroepidemiology of sheep brucellosis in the microregion of Feira de Santana, BA, Brazil. Braz. J. Vet. Res. Na. Sci, 50(2):129-135.

Azevedo S.S., Alves C.J., Alves F.A.L., Clementino I.J., Batista C.S.A. & Azevedo A.S. 2004. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Técnica, Areia/PB* 25: 45-50.

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 em 3 mar. 2015.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT): Manual técnico. Brasília, 2006. 184p.

Costa L.F., Pessoa M.S., Guimarães L.B., Faria A.K.S., Morão R.P., Mol J.P.S., Garcia L.N.N., Almeida A.C., Gouveia A.M.G., Silva M.X., Paixão T.A. & Santos R.L. 2016. Serologic and molecular evidence of *Brucella ovis* infection in ovine and caprine flocks in the State of Minas Gerais, Brazil, *BMC Res. Notes* 9:190 1-5.

Carvalho Júnior C.A., Moustacas V.S. & Xavier M.N. 2012. Andrological, pathologic, morphometric, and ultrasonographic findings in rams experimentally infected with *Brucella ovis*, *Small Rum. Res.* 102:213-222.

Chiebao D.P. 2011. Epididimite ovina: análise da situação no município de Piedade, São Paulo. *Pesq. & Tecn.* 8:16.

Clementino I.J., Alves C.J., Azevedo S.S., Paulin L.M. & Medeiros K.A. 2007. Inquérito sorológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semi-árido da Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 27, 137-143.

Cruz, R. B., Putini V. B., dos Santos Santana, G., Jorge J. S., Coelho I., da Silva D. L., Farouk Z., Tigre D. & Cerqueira R. B. 2009. Comparative study about sensitivity and specificity of indirect Elisa to test immunodiffusion in agarose gel for the serologic diagnosis of arthritis-encephalitis in goat (Caev). *Rev. Acad. Ciênc. Agrár. Ambient*, 7(3), 355-364.

Cunha Filho L.F., Leuzzi Junior L.A., Silva, L.C., Agottane J.V.B., Okano W., Sterza F.M.A. & Zanin R. 2007. Ocorrência de ovinos reagentes à prova de imunodifusão em gel ágar, para *Brucella ovis*, em propriedades da região norte do Paraná. *Revista UNOPAR Cient. Ciências Bio. e da Saúde*, 9(1): 67-70.

Estein S.M. 1999. Aspectos inmunológicos em el diagnóstico y control de la pididimitis contagiosa del carnero por *Brucella ovis*. *Arch. Med. Vet.* 31.

Greve I.C. Brucelose ovina: Estudo sorológico epidemiológico no semi-árido baiano e utilização de antígeno para teste diagnóstico/ Iuri Coelho Greve. – Salvador, 29/09/2010. 40p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) - Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, 2010.

Machado G., Santos D. V., Kohek I., Stein M. C., Hein H. E., Poeta A. S., Vidor A.C.M. & Corbellini, L. G. 2015. Seroprevalence of *Brucella ovis* in rams and associated flock level risk factors in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Prev. Vet. med.* 121(1), 183-187.

Magalhães Neto A & Gil-Turnes C. 1996. Brucelose ovina no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 16(2/3):75-79.

Manhezzo T. G., Conceição L. A. V., & de Castro B. G. 2015. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella*

ovis em ovinos de Sinop e região, Mato Grosso, Brasil. Rev. de Patologia Trop. 44(4): 483-388.

Marinho, M. & Mathias, L.A.1996. Pesquisa de anticorpos contra *Brucella ovis* em ovinos do estado de São Paulo. Pesquisa Veterinária Brasileira, 16(2/3):45-48.

Martins N.E.X., Almeida J.D.M., Silva M.G., Sousa M.G., Mathias L.A.& Almeida K.S.2013. Prevalência de anticorpos anti-*Brucella ovis* e anti-*Brucella abortus* em ovinos do município de Colinas, Tocantins, Brasil. Ver. de Patologia Trop. 42(2):147-160.

Marques A. P. R. 2006. Caracterização soroepidemiológica da infecção por vírus Maedi-Visna e *Brucella ovis* em ovinos no estado de Minas Gerais.

Nozaki C.N., Megid J., Lima K.C., Silva Júnior F.F.& Veloso C.S. 2004. 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. Arq. Inst. Biol. 71, 1-5.

Pinheiro Junior J.W., Oliveira A.A.F., Mota R.A., Agottani J.V. Jesus E.M., Assis S.T.& Oliveira C.Z.2009. Ocorrência de ovinos sororeatores para *Brucella ovis* no Estado de Alagoas. Vet. e Zoot. 16: 500-508.

Poester, F. P., Samartino L. E., & Santos R. L. 2013. Pathogenesis and pathobiology of brucellosis in livestock. Rev Sci Tech, 32(32), 105-115.

PUGH, D.G.Clínica de ovinos e caprinos.São Paulo: Roca, 2005.

Rizzo, H., Gregory L., Pinheiro E.S., Carvalho A.F., Santana R.L.& Silva L.M.P.2009. Incidência de *Brucella ovis* em ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos no estado de São Paulo, Brasil. Ciência Animal Brasileira; SUPLEMENTO 1 - VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA – ANAIS

Rizzo H., Gregory L., Beraldi F., Carvalho A.F., Pinheiro E.S. & Paulin L.M., 2014. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos no estado de São Paulo, Brasil. Arq. Inst. Bio. São Paulo 81(2):99-106.

Praud A., Champion J. L., Corde Y., Drapeau A., Meyer L. & Garin-Bastuji B. 2012. Assessment of the diagnostic sensitivity and specificity of an indirect ELISA kit for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. BMC vet. Res. 8(1), 1.

Souza T.S.C., Martinez J.N., Lima P.M., Araújo C.C.V., Costa B.R., Neto A.O.,Anunciação A.V.M., Almeida M.G.A.R.& Pinheiro R.R., 2012. Inquérito soro-epidemiológico de *Brucella ovis* em rebanhos ovinos no semiárido baiano.Arq. Inst. Biol. 79, 277–281

Schafer I., Vaz A., Ramella J.& Coutinho G.1997. Prevalência de carneiros reagentes à prova de imunodifusão em gel para *Brucella ovis* no Município de Lages, SC. Hora Vet. 17(99):60-61.

Simões T.V.M.D., Teixeira K.M., Azevedo H.C., OLIVEIRA A.A. & Muniz E.N.2015. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos Santa Inês no município de Frei de Paulo, Sergipe. Bio. São Paulo,77(2):1-226

Thrusfield, M. Epidemiologia Veterinária. 2.ed. São Paulo: Roca, 2004, p 556.

Troncoso I., González, J., Navarrete F., Lagos, A. & Wiethuchter C. F. 2014. Comparación entre Palpación Testicular y ELISA Indirecto en el Diagnóstico de Brucelosis Ovina. Rev. de Investigaciones Vet. del Perú, 25(4), 557-561.

WORLD ORGANISACION OF HEALTH ANIMAL - WHO.

Manual of standards diagnostic tests and vaccines, ovine epididymitis

Brucella ovis, 2000. Disponível em <http://www.oie.int/eng/en_index.htm>.

Acesso 15 dez. 2014.

6.CONCLUSÃO GERAL

Conclui-se que apesar do número pequeno de ovinos soropositivos nos dois testes, a doença está presente no rebanho paranaense, e que não existe concordância entre os testes de diagnóstico IDGA e ELISA. É bom lembrar que as amostras foram coletadas de rebanhos a campo representando, portanto, a realidade dos rebanhos. Podendo assim afirmar que a ocorrência de *Brucella ovis* em ovinos nas mesorregiões citadas é baixa.

7.ANEXOS

FICHA EPIDEMIOLÓGICA - BRUCELOSE

Propriedade nº=

Data: / /

Entrevistado**Nome/Função:** _____**Proprietário:** _____ Fone _____ para
contato: _____**1. Dados gerais sobre a propriedade:**

Endereço/Município: :

Localização :

Tamanho(hectare/alqueire):**1.2 Atividade principal:** pecuária agricultura mista**2. Dados epidemiológicos referentes a brucelose:**

2.1 Número de pessoas que moram na propriedade:

Adultos: (> 18 anos) Adolesc: (> 12 a 18 anos) Crianças: (0 a 12 anos)
 2.2 Presença de roedores: sim não silvestre**2.3 Observados em:** depósito de ração aprisco residência outros
 não sabe**2.4 Presença de gatos:** sim não não sabe

Nº de animais _____

2.5 Os gatos têm acesso a: depósito de ração feno silagem curral
 pastagem aprisco outros**2.6 Abastecimento de água (homem):** rede pública poço convencional mina Poço artesiano
 não sabe outros**2.7 Abastecimento de água (animais):** rede pública poço convencional mina represa
 açude pluvial córrego outros**2.8 A água consumida é armazenada em caixa d'água:** sim não**2.9 A água tem cor:** sim não**2.10 “ “ “ cheiro:** sim não**2.11 “ “ “ sabor:** sim não**2.12 A fonte de abastecimento de água está próxima à:**2.12.1 Curral sim não2.12.2 Esgoto sim não2.12.3 Privada sim não2.12.4 Canil sim não**2.13 Ingestão de carnes e derivados produzidos na propriedade:** sim não**2.13.1 Qual a frequência?:** diariamente semanalmente mensalmente semestralmente anualmente

2.14 Após temperar, você experimenta a carne antes de cozinhar: () sim () não

2.15 Tipo de carne consumida: () crua () mal passada () cozida

2.16 Qual os derivados consumidos?: () lingüiça frescal

() lingüiça defumada () quibe cru () outro; qual?

2.17 Ocorre abate de animais na propriedade, para consumo próprio: () sim () não

2.18 Quais as espécies: () bovina () suína () ovina () aves (frangos) () outra

2.19 O leite utilizado para a produção de queijo é pasteurizado ou fervido ?

() sim () não () não sabe

2.20 O queijo produzido na propriedade é consumido pelos moradores:

() sim () não () não sabe

2.21 Os moradores fizeram algum exame de sangue em 2010 a 2014:

() sim () não () não sabe

2.22 Toxoplasmose () sim () não () não sabe

Qual o teste?

Título

2.23 Brucelose

() sim () não () não sabe

Qual o teste

Título

2.24 Leptospirose

() sim () não () não sabe

Qual o teste?

Título

2.25 Outros:

Qual o teste?

Título

4.11 O problema foi diagnosticado: () sim () não Qual:

4.12 Problemas neurológicos com cordeiros: () membros flexionados () membros hiperextendidos

() ataxia () exoftalmia () assimetria ocular () nenhum () outro

5. Dados sobre a criação canina (Neosporose):

5.1 Qual o tipo de alimento consumido: () resto de comida () ração

() vísceras de animais abatidos () abortamentos

5.2 Problemas neurológicos : () paresia de membros () ataxia

() rigidez com membros esticados () morte súbita () outro () não sabe

5.3 Problemas respiratórios:

() sim. Qual? () não () não sabe

6. Vacinas

6.1 Animais foram vacinados

() sim () não () não sabe

6.2 Se vacinados quais as vacinas usadas e quando isto ocorreu (mês e ano)

() Clostridiose / _____ mês;

() Ectima Contagioso / _____ mês;

() Linfadenite / _____ mês;

() Raiva / _____ mês;

() Leptospirose / _____ mês;

() Fooovav/_____ mês;

() Kevac/_____ mês;

7. Vermífugos:

Método aplicação () oral () injetável

Princípio ativo/ nome comercial_____

Princípio ativo/ nome comercial_____

Princípio ativo/ nome comercial_____

() rotação de pastagens;

() Aprisco ripado;

() rotação de vermífugos;

() Método FAMACHA;

() aquisição de animais n último ano/ origem:_____

() último vermífugo utilizado/ a quanto tempo:_____

() número de piquetes/ categorias animal:_____

MAPA DAS MESORREGIÕES PARANAENSES



FONTE: <http://www.baixarmapas.com.br/mapa-do-parana-mesorregioes/>