

Ocorrência de ovinos reagentes à prova de imunodifusão em gel de ágar, para *Brucella ovis*, em propriedades da região norte do Paraná

The occurrence of sheep reagent to immunodiffusion in agar gel to *Brucella ovis* in properties in the north of Paraná

Luiz Fernando C. Cunha Filho^{*}
 Luiz Álvaro Leuzzi Junior^{**}
 Luiz Cezar da Silva^{**}
 Jorge Vitor Bacila Agottane^{***}
 Wener Okano^{****}
 Fabiana de Mello Andrade Sterza^{*****}
 Renato Zanin^{*****}

* Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho (UNESP). Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

** Universidade Estadual de Londrina (UEL). Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

*** Universidade Estadual de São Paulo (USP). Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

**** Instituto Tecnológico do Paraná (Tecpar).

***** Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

Resumo

A *Brucella ovis* está envolvida em distúrbios reprodutivos de machos e fêmeas, em praticamente todos os países do mundo onde se criam ovinos em regime extensivo. Em machos ela causa epididimite, orquite e infertilidade, e nas fêmeas causa aborto e mortalidade peri-natal. O objetivo desta pesquisa foi identificar a ocorrência de ovinos reagentes à prova de imunodifusão em gel de ágar para *Brucella ovis* em propriedades da região norte do Paraná. Foram examinados 213 soros sanguíneos de ovinos, entre machos e fêmeas em idade reprodutiva, procedentes de 10 rebanhos, situados em seis municípios sendo estes, Araçongas, Assaí, Astorga, Londrina, Mauá da Serra e Santa Fé na região norte do estado do Paraná. Apenas três animais (1,40%), de duas propriedades, reagiram positivamente. Conclui-se que a ocorrência de *Brucella ovis* na região do norte do Paraná é baixa, porém a enfermidade está presente na região estudada.

Palavras-chave: Epididimite. Ovinos. *Brucella ovis*.

Abstract

The *Brucella ovis* is involved in male and female reproductive disturbs in almost all countries of the world where sheep in extensive diet are created. In males they cause epididymits, orchitis and infertility, and in females they cause abortion and perinatal mortality. The objective of this research was to identify the occurrence of sheep reagent to the immunodiffusion in agar gel to *Brucella ovis* in properties around the north of Paraná. The blood serum of 213 sheep was examined, between males and females in reproductive age from 10 flocks located in six cities: Araçongas, Assaí, Astorga, Londrina, Mauá da Serra e Santa Fé in the north of Paraná State. Only three animals (1,40%) of two properties, reacted in a positive way. The conclusion is that the occurrence of *Brucella ovis* in the north of Paraná is low, however, the sickness does exist in the studied places.

Keywords: Epididymits. Sheep. *Brucella Ovis*.

1 Introdução

A ovinocultura com mais de 1 bilhão de animais no mundo, tem hoje um forte ramo pecuário mundial e brasileiro. Economicamente, no Mercado Comum do cone Sul - Mercosul (Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai), a ovinocultura ocupa lugar de destaque, com um total de aproximado de 81 milhões de cabeças, sendo a terceira atividade pecuária em número de animais, precedido somente pela avicultura e bovinocultura (CUNHA FILHO, 1997). O rebanho de ovinos da região sul do Brasil é de aproximadamente 4,5 milhões de cabeças, sendo que no estado do Paraná a estimativa é de 500.000 animais (IBGE, 2006).

A brucelose é uma doença infecto-contagiosa crônica comum em diversas espécies animais. O agente etiológico da brucelose ovina é *Brucella ovis* (NOZAKI et al., 2004).

A *Brucella ovis* foi inicialmente reconhecida no início da década de 50 na Nova Zelândia e na Austrália como um agente bacteriano associado ao aborto e epididimite em ovinos. Desde então o organismo tem sido isolado em vários países (BURGESS, 1982) e con-

siderada uma das causas mais importantes de infertilidade em ovinos, com impacto econômico bastante significativo (CARPENTER; BERRY; GLENN, 1987).

Clinicamente a infecção nos ovinos caracteriza-se por epididimite, orquite e infertilidade nos machos e, ocasionalmente, aborto nas fêmeas (FICAPAL et al., 1998).

O primeiro sinal clínico nos reprodutores é uma acentuada queda na qualidade do sêmen, junto à presença de leucócitos. O epidídimo fica dilatado e duro, mais comumente à cauda, as túnicas escrotais engrossadas e endurecidas e os testículos geralmente atrofiados (BLOOD; HENDERSON, 1978).

As fêmeas infectadas podem abortar. Os abortos apresentam-se, com máxima frequência, na segunda metade da gestação e acarretam uma seqüela de endometrite. Também é observado o nascimento de crias mortas ou de cordeiros com debilidade vital na gestação a termo (BERR, 1999).

A taxa de abortamento pode chegar a 39% em ovelhas gestantes inoculadas experimentalmente, sendo que o aborto ocorre em torno de 30 dias após a inoculação com *Brucella ovis*. Na infecção natural os abortamentos ocorrem no terço final da gestação (PUGH, 2005).

Sob condições naturais, a disseminação entre os reprodutores ocorre imediatamente durante a estação do acasalamento e quando eles convivem juntos. É desconhecida a maneira exata pela qual a doença se propaga em um rebanho ovino (BLOOD; HENDERSON; RADOSTITS, 1991).

Métodos clínicos e bacteriológicos não são adequados para detecção da doença em um número muito grande de ovinos, porque ambos os métodos falham ao detectar todos os animais. Vários métodos sorológicos têm sido utilizados para detectar anticorpos contra *Brucella ovis* incluindo a imunodifusão em gel de ágar (IDGA) (VIGLIOCCO et al., 1997).

O presente trabalho teve como objetivo, verificar a ocorrência de ovinos reagentes à prova de imunodifusão em gel de ágar, para *Brucella ovis*, em propriedades da região norte do Paraná.

2 Material e Métodos

Foram coletadas 213 amostras de sangue de ovinos das raças Santa Inês, Texel, Suffolk, Hampshire Down e Ile de France, em período reprodutivo, procedentes de 10 rebanhos, situados nos municípios de Arapongas, Londrina, Santa Fé, Mauá da Serra, Assaí e Astorga no estado do Paraná. O período de realização foi de dezembro de 2005 a janeiro de 2006.

Foi preenchida ficha contendo nome da propriedade, proprietário, numeração do animal, peso, idade, raça e ocorrência de patologias reprodutivas, especialmente aborto. Nos machos também foi realizado o exame andrológico macroscópico, pela palpação dos epidídimos e mensuração da circunferência escrotal.

A coleta de sangue foi realizada por meio de venopunção jugular, utilizando-se agulha (40/12) descartável e acondicionando o sangue em frasco estéril, contendo uma etiqueta com o número de identificação do animal. Os frascos contendo o sangue foram

acondicionados em recipiente refrigerado e encaminhados para o Laboratório de Imunologia e Microbiologia Veterinária da Unopar, onde foram obtidos os hemossoros que foram acondicionados em tubos tipo "ependorf" e congelados a temperatura de -20°C.

Para a pesquisa de anticorpos anti-brucella ovis utilizou-se a técnica descrita pelo TECPAR, de imunodifusão em gel de ágar, utilizando antígeno e controle positivo fornecido pelo Instituto de Tecnologia do Paraná.

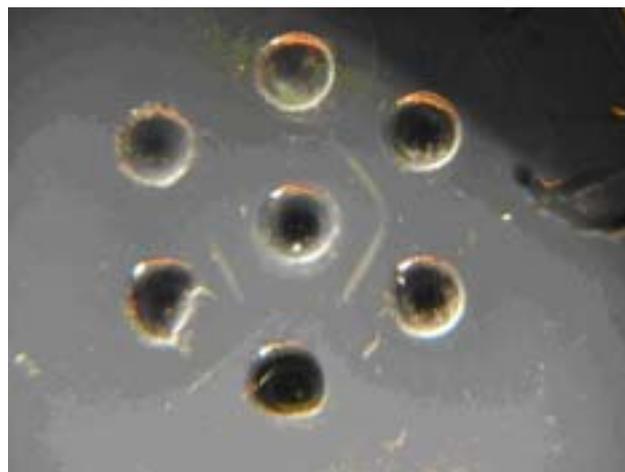


Figura 1. Roseta mostrando reação de precipitação no poço dois (positivo)

Os dados foram analisados através de estatística descritiva, com valores absolutos e relativos (porcentagem), considerando-se positivos para brucelose os animais que reagiram à IDGA anti-brucella ovis.

3 Resultados e Discussão

Município	Nº de Teste	Nº de Positivos	% de Animais positivos/ Município
Arapongas	25	0	0
Santa Fé	60	1	1,66
Mauá da Serra	40	2	5
Assaí	27	0	0
Astorga	31	0	0
Londrina	30	0	0
Total	213	3	140

Tabela 1. Número de amostras colhidas por município, e frequência de animais positivos por município, Paraná, 2006.

Dos 213 soros testados, apenas três (1,40%) reagiram positivamente ao IDGA anti-brucella ovis. Interessante destacar que se tratava de duas fêmeas que não apresentavam histórico de aborto, e um macho sem sinais clínicos de epididimite.

O presente trabalho demonstrou resultados próximos àqueles encontrados por Reis (2005), em levantamento feito também na região norte do Paraná, onde foram

examinados soros de 109 ovinos machos, e apenas 1 (0,91%) reagiu positivamente. Evidenciando que a ocorrência da brucelose ovina na região ainda é baixa

Em regiões com uma ovinocaprinocultura mais consolidada, com maior número de criadores e rebanhos maiores, o índice de ovinos soropositivos está ao redor de 10 a 15%, provavelmente por um intercâmbio maior de reprodutores, possibilitando

assim uma maior disseminação da enfermidade. Nozaki et al. (2004) analisaram amostras de sangue coletadas de 1033 animais em cabanhas da região Centro-Oeste do estado de São Paulo, e obtiveram 12% dos ovinos reagentes à brucelose.

Azevedo et al. (1999) encontraram na região Serido do Rio Grande do Norte, 11,3% de ovinos positivos. Em contrapartida no mesmo estado, Silva et al. (2001), encontraram 34% (103/290) de ovinos positivos ao teste de IDGA, podendo indicar um incremento na disseminação da enfermidade. Confirmam ainda os estudos de Coletto, Pinheiro Junior e Mota (2003), em pesquisa da ocorrência de infecção por *Brucella ovis* em ovinos da região do estado de Pernambuco e sua participação em distúrbios reprodutivos nesta espécie, constataram 16,25% de positivos.

Entretanto, alguns estudos obtiveram resultados discrepantes. Em pesquisa de anticorpos contra *Brucella* em ovinos do estado de São Paulo, Marinho e Mathias (1997) pesquisaram 850 animais, e todos reagiram negativamente ao teste de imunodifusão em gel. Schafer et al. (1997), verificaram a prevalência de carneiros reagentes a prova de imunodifusão em gel para *Brucella ovis* no Município de Lages-SC, das 69 amostras de soros, todos também reagiram negativamente ao teste.

De acordo com Cardoso et al. (1989), em trabalho realizado no Rio Grande do Sul, de 368 animais examinados, 36 (9,79%) foram reagentes ao teste de IDGA. Destes animais reagentes apenas 13 (36,12%) apresentavam lesões de epidídimo detectáveis pela palpação escrotal, demonstrando assim como é falho somente o exame clínico no diagnóstico da brucelose. No presente estudo os animais que reagiram positivamente ao IDGA, não apresentavam sinais clínicos, e, portanto, poderiam até participar de exposições que exigem somente laudo de ausência de sinais clínicos compatíveis com brucelose ovina.

4 Conclusão

A ocorrência de ovinos reagentes à prova de imunodifusão em gel de ágar para *Brucella ovis*, na região do norte do Paraná, é baixa, porém a brucelose ovina encontra-se presente na região estudada.

Os animais que foram positivos ao teste de IDGA, não demonstraram sinais clínicos evidentes da doença, destacando a importância do teste de imunodifusão em gel de ágar no diagnóstico da *Brucella ovis*. A pesquisa também demonstra a importância de se adotar a IDGA na comercialização de reprodutores e na admissão em feiras e exposições.

Referências

AZEVEDO, S. S. et al. Prevalência de ovinos reagentes à prova de imunodifusão em Gel para *Brucella ovis* na Região Serido do Rio Grande do Norte. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 4., 1999, Recife. *Anais...* Recife: UFPB, 1999. p. 269-270.

BEER, J. *Doenças infecciosas em animais domésticos*. São Paulo: Roca, 1999.

BLOOD, D. C.; HENDERSON, J. A. *Medicina Veterinária*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978.

BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. *Clínica veterinária*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

BURGESS, G. W. Ovine contagious epididymitis: a review. *Vet. Microbiol.*, v. 7, n. 6, p. 551-575, Dec. 1982.

CARDOSO, M. R. I. et al. Alterações da morfologia espermática em carneiros naturalmente infectados pela *Brucella ovis*. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, Porto Alegre, v. 17, p. 39-48, 1989.

CARPENTER, T.E.; BERRY, S.L.; GLENN, J.S. Economics of *Brucella ovis* control in sheep: computerized decision-tree analysis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 190, n. 8, p. 983-987, Apr. 1987.

COLETO, Z. F.; PINHEIRO JUNIOR, W.; MOTA, R. A. Ocorrência de Infecções por *Brucella ovis* em Ovinos do Estado de Pernambuco e sua Participação em Distúrbios Reprodutivos nesta espécie (estudos preliminares). *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v. 27, n. 3, p. 551-3, 2003.

CUNHA FILHO, L .F. C. da. *Resistência a anti-helmínticos em ovinos da região de Londrina-Paraná-Brasil*. 1997. (Mestrado em Medicina Veterinária - Sanidade Animal) – Universidade Estadual de Londrina, 1997.

FICAPAL, L.C. et al. Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. *Small Rum. Res.*, v. 29, n. 1, p. 13-19, June 1998.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). *Censo Agropecuário*. 2006 Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/bubalino_e_suinos.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2007.

KOERICH, P. K. V.; VAZ, A. K. Comparação de antígenos utilizados no diagnóstico de *Brucella ovis*. *Rev. Cienc. Agrovet.*, v. 1, n. 2, p. 120-124, 2002.

MARINHO, D. V.; MATHIAS, J. P. Pesquisa de anticorpos contra *Brucella ovis* em ovinos do Estado de São Paulo e comparação entre as provas de soroaglutinação, fixação de complemento e ELISA indireto. *ARS Veterinária*, Jaboticabal, v. 13, n. 3, p. 231-240, 1997.

NOZAKI, B. et al. 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.*, São Paulo, v. 71, n. 1, p. 1-5, jan./mar. 2004.

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

REIS, C. G. Incidência de ovinos machos reagentes à prova de imunodifusão em gel de ágar para *Brucella ovis* na região norte do Paraná. 2005. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina

Veterinária) – Universidade Norte do Paraná, 2005.

SANTOS, R. L.; POESTER, F. P.; LAGE, A. P. Infecção por *Brucella ovis*. *Cad. Téc. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte, n. 47, p. 42-56, 2005.

SCHAFFER, S. A. et al. Prevalência de Carneiros Reagentes à Prova de Imunodifusão em Gel para *brucella ovis* no Município de Lages – SC. *A Hora Vet.*, Porto Alegre, v. 17, n. 99, p. 60-1, 1997.

SILVA, J. B. A. et al. Ocorrência de brucelose ovina

causada por *B. ovis* pelo método de imunodifusão em ágar gel em rebanhos do estado do Rio Grande do Norte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 28., 2001., Gramado. *Anais...* Gramado, 2001. p. 168.

VIGLIOCCO, A. M. et al. Development and validation of an indirect enzyme immunoassay for detection of ovine antibody to *Brucella ovis*. *Vet. Microbiol.*, v. 54, n. 3-4, p. 357-368, Mar. 1997.

Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho*

Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho (UNESP). Docente do curso de Medicina Veterinária, Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

e-mail: <luiz.cunha@unopar.br>

Luiz Álvaro Leuzzi Junior

Mestre em Sanidade Animal pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Docente Universidade Norte do Paraná (UNOPAR)

e-mail: <luiz.leuzzi@unopar.br>

Luiz Cesar da Silva

Doutor em Epidemiologia Experimental Aplicada a Zoonose pela Universidade de São Paulo (USP). Docente da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

e-mail: <luiz.silva@unopar.br>

Jorge Vitor Bacila Agottane

Doutor do Instituto Tecnológico do Paraná (Tecpar).

Werner Okano

Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho (UNESP). Docente do curso de Medicina Veterinária, Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

e-mail: <werner.okano@unopar.br>

Fabiana de Mello Andrade Sterza

Doutora em Medicina Veterinária. Docente do curso de Medicina Veterinária, Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

e-mail: <fabiana.sterza@unopar.br>

Renato Zanin

Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

***Endereço para correspondência:**

Rua Fábio Paludetto, 100, Jardim Pinheiros – CEP 86063-160 – Londrina, Paraná, Brasil.
