

História da Brucelose



- Sir David Bruce (1855-1931)
 - Médico do Exército Britânico e microbiologista
 - Identificou o *Micrococcus* melitensis (1887)
- - Determinou que os caprinos eram o reservatório

Center for Food Security and Public Health, Iowa State University, 2012

História da Brucelose



- Bernhard Bang (1848-1932)
 - Médico e Veterinário dinamarquês
 - Identificou o *Bacterium* abortus (1897) que
 infectava bovinos,
 cavalos, caprinos e
 ovinos

Fonte: Center for Food Security and Public Health, Iowa State University, 201

História da Brucelose

- · Alice Catherine Evans
 - Bacteriologista americana
 - Identificou morfologia e patologia similar entre:
 - Bang Bacterium abortus
 - Bruce Micrococcus melitensis
- Mudando a nomenclatura do gênero Brucella
 - Nome em homenagem a Sir **David Bruce**



Brucelose

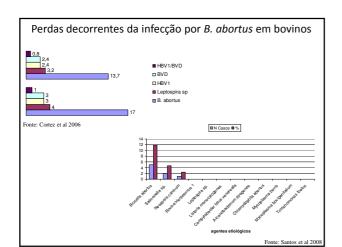
- Definição
 - Doença infecto-contagiosa provocada por bactérias do gênero Brucella
 - Entre os bovinos, caracteriza-se por provocar abortos geralmente no terço final da gestação, nascimento de bezerros fracos, retenção de placenta, repetição de cio e descargas uterinas com grande eliminação da bactéria, podendo ainda transmitir-se ao homem

Sinonímia de Brucelose

- Bovinos
- Homem
- Doença de Bang
- Febre ondulante
- -Aborto infeccioso
- -Febre de Malta
- -Aborto contagioso Equino

 - - -Mal das cruzes
 - -Mal de cernelha

Perdas decorrentes da infecção por E	. abortus em bovinos
Causa de Perda Econômica	Таха
Aborto	10 a 50%
Infertilidade	20%
Natimortos	5 a 20%
Bezerros fracos	
Diminuição na produção de leite	10 a 25%
Diminuição da produção de carne	5%
Mortalidade de animais adultos	1%
Redução da vida produtiva dos animais	
Reposição de animais	15%
Limitação na comercialização de animais	



Etimativa de Custo para os Parâmetros de Produtividade para Gado de Leite e Parameter Dairy cattle Reais (R\$) Reais (R\$) Milk (liters) Cost of abortion or perinatal mor- 366.44 323,53 1.54 150,50 Cost of abortion or perinatal mor-tality (unit) 366.44 323,53 Cost of temporary infertility (per seropositive cow) 4.01 3,54 Cost of Replacement of cows (unit) 815.43 719,94 Cost of Replacement of bulls (unit)* 1,223.14 1,079,91 Mortality of seropositive cattle (unit) 2,753.64 2,431,18 Veterinary costs (per seropositive cow) 5,54 4,89 0.18 17,59 6.18 603,97 9.27 905,95 11.32 1.106,30 0.043 4.20 cow) Milk production loss (per seropo- 223.85 197,57 sitive cow) Meat production loss (per seropositive beef cow) 0.58 Custo de R\$ 420,12 (leite) ou R\$ 226,47 (corte) para cada fêmea

infectada acima de 24 meses de idade

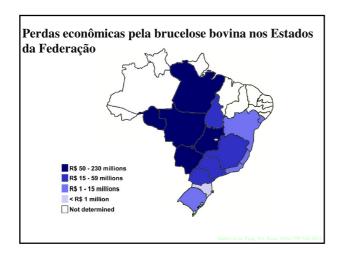
Santos et al. Pesq. Vet. Bras. 33(6):759-764. 2013.

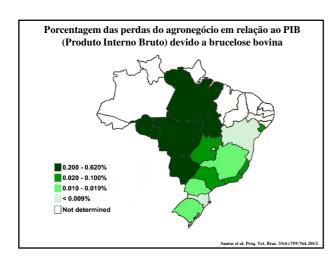
Estimativas das perdas da cadeia produtiva de gado de leite e corte em relação aos
Estados da Federação e de acordo com a prevalência da brucelose bovina

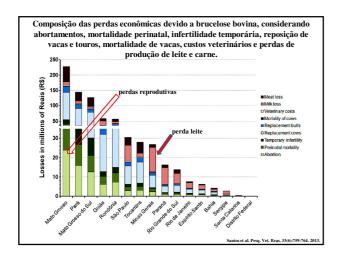
State	Dairy cattle	Beef cattle	Total
Bahia	1.868.296,94	2.321.192,53	4.189.489,48
Distrito Federal	9.463,17	5.859,48	15.322,65
Espírito Santo	4.373.472,08	1.872.869,21	6.246.341,29
Goiás	26.953.925,30	32.282.555,22	59.236.480,52
Mato Grosso	27.784.600,37	199.964.995,36	227.749.595,73
Mato Grosso do Sul	10.228.498,61	116.873.082,42	127.101.581,03
Minas Gerais	20.152.144,28	6.826.750,96	26.978.895,24
Pará	29.961.048,03	114.314.497,85	144.275.545,87
Paraná	10.200.340,57	6.158.942,21	16.359.282,78
Rio de Janeiro	5.122.400,89	2.371.200,97	7.493.601,86
Rio Grande do Sul	5.614.626,90	8.226.209,53	13.840.836,44
Rondônia	23.718.015,07	33.425.186,43	57.143.201,49
Santa Catarina	216.062,40	55.274,52	271.336,91
São Paulo	13.375.114,77	17.227.857,21	30.602.971,98
Sergipe	1.855.085,13	888.414,13	2.743.499,26
Tocantins	4.610.792,96	23.473.875,24	28.084.668,20
Total	186.043.887,48	566.288.763,25	752.332.650,73
Estimated losses in the remaining States**	42.436.663,87	97.947.198,40	140.383.862,27
Estimated total losses in Brazil***	228.480.551,35	664.235.961,65	892.716.513,00

0,3201% PIB produção animal 0,0215% PIB total

Santos et al. Pesq. Vet. Bras. 33(6):759-764. 20







Espécies do gênero Brucella

Brucella abortus (Schmidt 1901) (Meyer and Shaw 1920).

Brucella canis (Carmichael and Bruner 1968)

Brucella ceti (Foster et al. 2007)

Brucella inopinata (Scholz et al. 2010)

Brucella melitensis (Hughes 1893) (Espécie típica do gênero).

Brucella microti (Scholz et al. 2008)

Brucella neotomae (Stoenner and Lackman 1957)

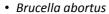
Brucella ovis (Buddle 1953).

Brucella pinnipedialis (Foster et al. 2007)

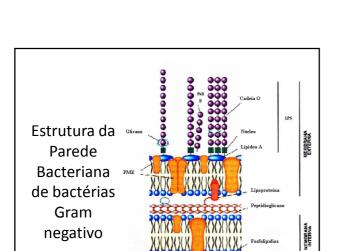
Brucella suis (Huddleson 1929,)

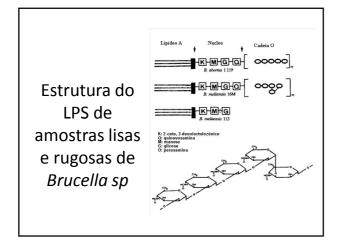
Fonte: www.bacterio.cict.fr/b/brucella

			-
			-
			-
			-
			-
			-
			-



- Gram negativo coccobacilos
- Patogeno intracelular facultativo
- Dividido em 9 biovars
- Outras espécies que podem afetar o gado
 - B. melitensis and B. suis
- Pode persistir no meio ambiente





Espécie(s)	Hospedeiro Preferencial	Hospedeiros secundários
Bovinos	B. abortus	B. melitensis**
		B. suis
Ovinos	B. melitensis**	B. abortus
	B. ovis (Epididimite)	
Caprinos	B. melitensis**	B. abortus
Equinos	B abortus	B. suis
Suinos	B. suis	B. melitensis**
		B. abortus
Caninos	B. canis	B. abortus
		B. melitensis**
		B. suis
Homem	B. abortus	B. canis
	B. melitensis**	
	B. suis	
	B. inopinata**	?
	B. ceti**	
	B.pinnipedialis**	?
Roedores	B. neotomae**	?
(Neotoma lepida)		
Camundongo campo	B. microti **	?
(Microtus arvalis)		
Cetáceos	B. ceti**	?
Penípedes	B. pinnipedialis**	?

			Cromoba	cterio	stase" '	Agl	utinaçâ	io em
Biotipo	Requer CO ₀		Fucsina	Tio	nina	Soro r Espec		Soro anti-
			básica ·	а	b	A	M	rugosa
Brucella	melitens	is						
1			+	-	+	•	+	
2			+	-	+	+	-	-
3	-	-	+	-	+	+	+	-
Brucella	abortus							
1	d	+	+	-		+		
2	d	+	-	-	-	+	-	-
3	d	+	+	+	+	+	-	-
4	d	+	+	-	-		+	
5			+	-	+	•	+	
0		d	+	-	+	+	-	
7		d	+	-	+	+	+	-
0	- ou +	+	+	•	+		+	•
Brucella	suis							
1		+	-	+	+	+	-	•
3					+	+	- :	- :
4	- 1	- 1	+	+	+	+	- 7	- :
4	- 1	- 1	*	*				- 1
Brucella	neo toma	20		-	-		-	
Diacona	-	+		-	+	+	٠.	
Brucella	ovis				-			
	+		+	+	+	-	-	+
Brucella	cania			-				
				+	+			+

Luz solar direta		4 – 5	Horas
Solo			
	Solo seco	4	Dias
	Solo úmido	66	Dias
a baixas te	emperaturas	151 – 185	Dias
Fezes		120	Dias
Dejetos			
altas temperaturas		2 – 4	Horas
Esgoto		8 - 240/700	Dias
Água			
Potável		5 – 114	Dias
poluída		30 – 150	Dias
Feto à sombra		180	Dias
Exsudato uterino		200	Dias

Indicação do Emprego de Desinfetantes em Brucelose Bovina

Item a ser desinfetado	Unidade	Quantidade de desinfetante a ser utilizado (L)
Instalações	m ²	1
Esterco líquido	L	1
Pisos de terra	m².	5
Utensílios	kg	2
Roupas de trabalho	kg	5
Veículos em geral	m	1

Desinfetantes utilizados em caso de Brucelose Bovina

Desinfetante	Concentração	Tempo de exposição	Temperatura de utilização	Uso indicado
Cal (hidróxido de cálcio)	15%	1 hora	Ambiente	Instalações solo
Cresóis	5%	1 hora	Ambiente	Instalações
Fenol	1%	1 hora	37°C	Instalações
Formol	5% ¹	1 hora	Ambiente	Instalações utensílios e roupas
Hipoclorito de cálcio	2,5%	1 hora	Ambiente	Instalações e utensílios
Hipoclorito de sódio	2,5%	1 hora	Ambiente	Instalações e utensílios
Soda cáustica	2 % - 3%	3 horas	60°C	Instalações e utensílios

Resistência de *Brucella sp* em produtos de origem animal

Leite	17 dias
Leite congelado	> 800 dias
Queijos	até 6 meses
Manteiga	até 4 meses
logurte	até 96 dias
Temperatura de 60ºC	10 minutos
Temperatura de 71,7ºC	15 segundos

Sensibilidade de *B. abortus* ao Calor

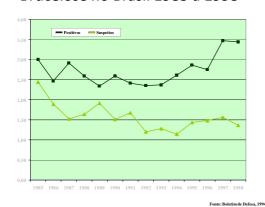
Autoclavação	120°C por 20 min
Pasteurização lenta	65°C por 30 min
Pasteurização rápida	72 a 74°C por 15 a 20 s
Fervura	poucos segundos
Fervura	poucos segundos

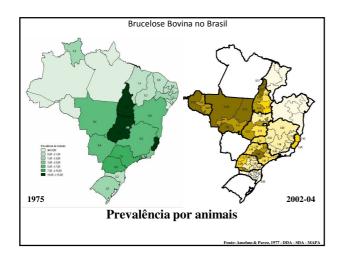
Situação Epidemiológica da Brucelose Bovina na Brasil

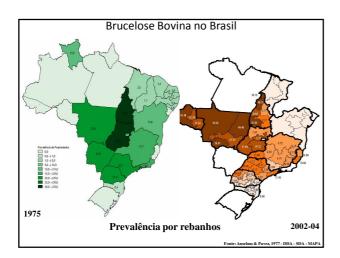
• Animais Reagentes - 1975

Região Sul	4,0%
Região Sudeste	7,5%
Região Centro-Oeste	6,8%
Região Nordeste	2,5%
Região Norte	4,1%

Brucelose no Brasil 1985 a 1998







Situação Epidemiológica da Brucelose Bovina no Brasil

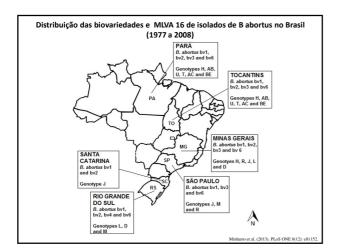
• Outros Estudos

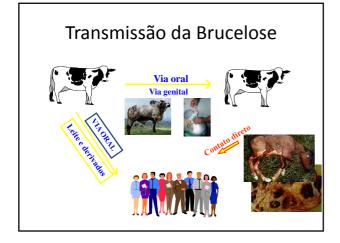
Estado	Ano	%	Ano	%
Rio Grande	1975	2,0	1986	0,3
do Sul				
Santa	1975	0,2	1996	0,6
Catarina				
Minas	1975	6,3	1980	6,7
Gerais				
Mato	1975	6,4	1999	6,3
Grosso do				
Sul				

Brucella sp confirmadas no Brasil

- *B. abortus* biovar 1, 2, 3, 4 e 6
- B. suis biovar 1
- B. canis
- B. ovis

Garcia-Carrillo, 1990 Minharro et al., 2013







Transmissão da Brucelose Bovina







Transmissão da Brucelose Bovina



Vacas inspecionando feto abortado

Foto: http://www.drostproject.vetmed.ufl.edu/bovine/index.h

Fatores que Influenciam a Transmissão da Brucelose Bovina Entre Rebanhos

- Aquisição de animais
 - frequência de compra
 - origem dos animais
 - testes de Brucelose
- Proximidade com rebanhos afetados
- Cursos d'água

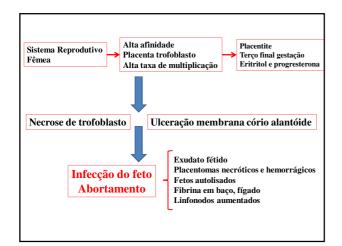
Fatores que Influenciam a Transmissão da Brucelose Bovina Dentro de Rebanhos

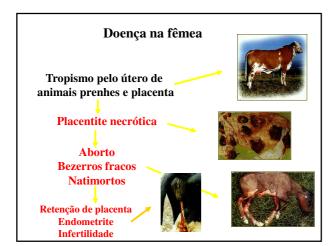
- Cobertura vacinal
- · Tamanho do rebanho
- Densidade populacional
- Instalações
- · Pasto maternidade
- Sistemas de limpeza e desinfecção

PATOGÊNESE

- fêmeas infectadas são geralmente assintomáticas
- período de incubação 2 semanas a 2 meses ou mais
- bactéria eliminada no meio ambiente no periparto
- durante incubação a bactéria localiza-se na mucosa local: útero (epitélio trofoblástico), placenta, úbere e linfonodos regionais
- sobrevivência e multiplicação em macrófagos (inibição fusão fagossoma-lisossoma)

PATOGENIA Oral Respiratório Porta de Entrada Conjuntivas Genital Pele Linfonodo regional Linfonodos Baço Fígado Disseminação Hemática Linfática Sistema reprodutivo Útero Úbere Macrófagos Articulações Neutrófilos







Lesões Macroscópicas de Placenta na Infecção por B.abortus em Bovinos

Lesões Macroscópicas na Infecção por *B. abortus*



Doença no macho Inflamação aguda sistema reprodutivo Cronificação (assintomática) Testículo Epidídimo Vesículas seminais Ampolas seminais (necrose, fibrose ou pús)

Brucelose em outras espécies

Brucelose Suína (B. suis)



Brucelose em Equinos (B. abortus)





Epididimite Ovina

(B. ovis)

- Métodos Diretos
 - Bacteriologia
 - PCR
 - Imunoistoquímica
- Métodos Indiretos
 - Sorologia

Métodos Diretos de Diagnóstico de Brucelose

- Isolamento e identificação
 - Necessidade de CO₂ para isolamento primário
 - Material para isolamento
 - Linfonodos (parotídeo, pré-escapular, bronquial, ilíaco interno, supramamário), baço, "swab" vaginal e leite
 - Feto (linfonodo bronquial, conteúdo estomacal, baço fígado, pulmão, "swab" retal)
 - Meios seletivos
 - meio base + 5% SFB + ATB
 - Provas bioquímicas
 - Tempo de diagnóstico
 - Risco de contaminação







Métodos Diretos de Diagnóstico de Brucelose

- Reação em cadeia da polimerase (PCR)
 - Amplificação do DNA de Brucella sp
 - Alta sensibilidade e especificade
- Imunoistoguímica
 - Identificação específica de Brucella sp no tecido

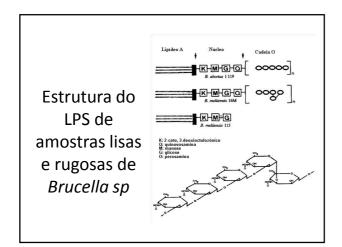


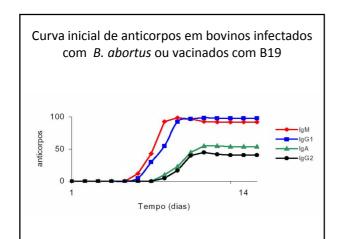
Diagnóstico Sorológico de Brucelose

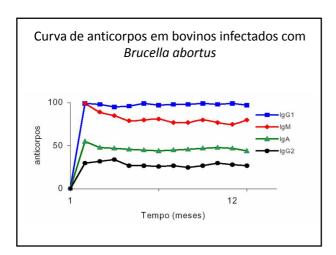
- Vantagens
 - fácil execução e interpretação
 - rapidez na obtenção dos resultados
 - baixo custo
 - padronização internacional
- Desvantagens
 - interferência vacinal
 - infecção com outros agentes
 - Yersinia enterocolitica 0:9
 - animais em período de incubação

Diagnóstico Sorológico de Brucelose

- Reação antígeno-anticorpo à infecção por Brucella sp
- Espécies de Brucella sp com morfologia colonial lisa
 - B. melitensis
 - B. abortus
 - B. suis
- Espécies de Brucella sp com morfologia colonial rugosa
 - B. canis
 - B. ovis
- Lipopolissacarídeo (LPS)





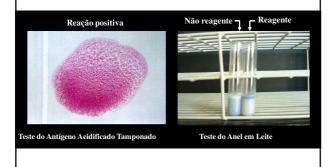


Testes aprovados pelo PNCEBT para o Diagnóstico de Brucelose

- · Testes de Triagem
 - Teste do Anel em Leite TAL
 - Teste do Antígeno Acidificado Tamponado TAA
- Testes Confirmatórios
 - Teste do 2-mercaptoetanol 2-ME
 - Teste de Fixação de Complemento FC
- Marcação dos animais positivos com um P na face direita

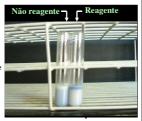


Provas de Triagem



Teste do Anel em Leite - TAL

- Teste de Aglutinação
- Antígeno de *B. abortus* B1119-3 a 4%, corado com hematoxilina
- Complexo Ag-Ac + glóbulo de gordura
- IgG e IgM
- Leite de latões ou tanques
- Triagem de rebanhos
- Executado por veterinários habilitados e laboratórios credenciados e oficiais
- Resultado
 - Reagente
 - Não reagente

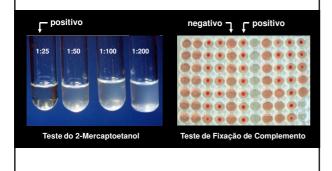


Teste do Antígeno Acidificado Tamponado - TAA

- Teste de Aglutinação
- Antígeno de B. abortus B1119-3 a 8%, corado com Rosa de Bengala, pH 3,65 tamponado
- Formação de grumos
- IgG1
- Soro, plasma seminal, etc.
- Triagem de animais
- Executado por veterinários habilitados e laboratórios credenciados e oficiais
- Resultado
 - Reagente
 - Não reagente



Provas Confirmatórias



Teste do 2 - Mercaptoetanol - 2-ME

- Teste de Aglutinação
- Antígeno de *B. abortus* B1119-3 a 0,045% Duas séries de tubos
- - 2-ME SAL
- Formação de grumos e turbidez da suspensão
- Reação completa
 Reação incompleta IgG
- Soro, plasma seminal, etc.
- Executado por laboratórios credenciados e oficiais
- Resultado
 Positivo
 Inconclusivo

Reação positiva										
1:25	1:50	1:100	1:200							
To all										

Interpretação do teste do 2-ME para fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses, que foram vacinadas entre três e oito meses de idade.

2-MI SAL	NR NR	251	25	501	50	100I	100	200I	200
NR	-								
25I	-	-							
25	-	•	+						
50I	-	-	+	+					
50	-	-	+	+	+				
100I	-	-	+	+	+	+			
100	Inc	Inc	+	+	+	+	+		
200I	Inc	Inc	+	+	+	+	+	+	
200	Inc	Inc	+	+	+	+	+	+	+

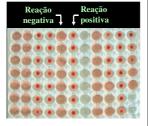
Interpretação do teste do 2-ME para fêmeas não vacinadas e machos com mais de 8 meses.

2-MI SAL	NR	251	25	50I	50	100I	100	200I	200
NR	-								
25I	-	-							
25	-	-	+						
50I	-	-	+	+					
50	Inc	Inc	+	+	+				
100I	Inc	Inc	+	+	+	+			
100	Inc	Inc	+	+	+	+	+		
200I	Inc	Inc	+	+	+	+	+	+	
200	Inc	Inc	+	+	+	+	+	+	+

Teste de Fixação do Complemento - FC

- Baseado na fixação do complento
- Antígeno de B. abortus B1119-3
- Leitura espectrofotométrica
- IgM e pp IgG1
- Soro
- Executado por laboratórios oficiais
- Resultado

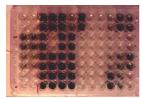
 - PositivoInconclusivoNegativo



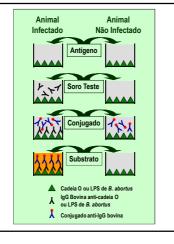
_				
_				
_				
-				
-				
_				
_				
_				
_				

Novas Provas

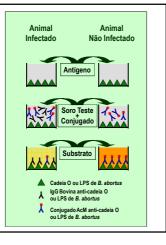
- Elisa Indireto
- Elisa Competitivo

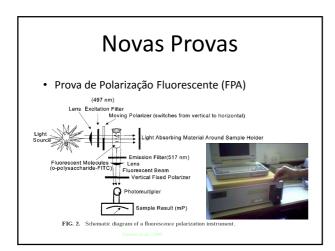


Elisa Indireto



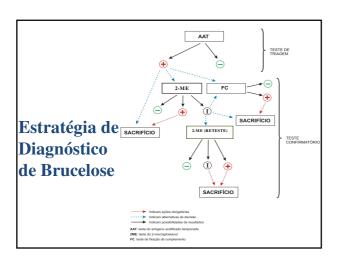
Elisa Competitivo





Propriedades dos Testes utilizados no Diagnóstico Sorológico da Brucelose Bovina

Test	Sensitivity ^a	Specificity ^a	Performance index ^a	References
SAT	29.1-100	99.2-100	129.1-200	Van Aert et al., 1984; Lord et al., 1989
RBT	21.0-98.3	68.8-100	121.0-193.9	Van Aert et al., 1984; Samartino et al., 1999
Card	74.3-99.0	7.4–100	106.4-187.5	Stemshorn et al., 1985; Huber and Nicoletti 1986;
BPAT	75.4-99.9	90.6-100	174.3-199.7	Lord et al., 1989 Stemshom et al., 1985; Uzal et al., 1996;
DIAI	13.4-99.9	90.0-100	174.5-199.7	Samartino et al., 1989, Ozai et al., 1990,
RIV	50.5-100	21.9-100	108.7-200	Huber and Nicoletti, 1986; Lord et al., 1989; Dajer et al., 1999
2ME	56.2-100	99.8–100	156.2-200	Lord et al., 1989; Stemshorn et al., 1985; Saravi et al., 1995
CFT	23.0-97.1	30.6-100	123.0-197.5	Huber and Nicoletti, 1986; Van Aert et al., 1984; Saravi et al., 1995
PCFIA	92.0-98.1	48.6-69.9	140.6-168.0	Nicoletti and Tanya, 1993; Nielsen et al., 1998
IELISA	92.5-100	90.6-100	190.9-200	Dohoo et al., 1986; Rojas and Alonso, 1994
CELISA	97.5-100	99.7-99.8	197.3-199.8	Samartino et al., 1999; Nielsen and Gall, 2001
FPA	99.0-99.3	96.9-100	195.9-199.3	Dajer et al., 1999; Nielsen and Gall, 2001



Diagnóstico Direto Fue Ingriros a desegue, estimad all edubroriae findae hard Coleta de líquido do abomaso para o isolamento ou PCR





Características de uma vacina ideal contra Brucelose Bovina

- Não induzir Ac que interfiram com o diagnóstico sorológico, mesmo quando aplicada repetidamente
- Ser atenuada e aplicável em animais de qualquer idade
- Não provocar abortos em animais prenhes
- Induzir imunidade forte e duradoura com uma única dose
- Ser estável
- Ser barata e fácil de preparar

Vacinação contra Brucelose

- Obrigatória com amostra B19 em todas as fêmeas, bovinas e bubalinas, com idade entre 3 e 8 meses;
- Responsabilidade do médico veterinário cadastrado;
- Aquisição somente com receituário médico veterinário
- Marcação no lado esquerdo da face do animal com V#;
- Proibida a vacinação de animais adultos e machos com B19;
- Comprovação semestral da vacinação na UVL.



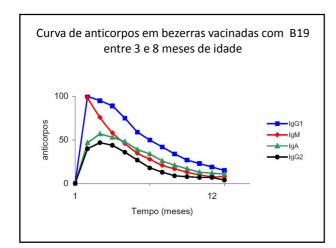


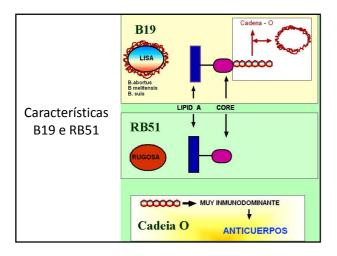
Vacina B 19 - I

- Amostra lisa de *B. abortus*
- · Vacina viva atenuada
- Amostra estável e de reduzida virulência
- Utilizada como vacina desde a década de 1930
- Pode provocar aborto e orquite
- Cuidados na aplicação
- Patogênica para o homem

Vacina B 19 - II

- Persistência de Ac é evitada com vacinação na idade de 3 - 8 meses
- Proibida a vacinação de animais adultos;
- Proteção de 65 75 %
- Imunidade por aproximadamente sete anos
- Vacinação previne a brucelose clínica
- Vacinação de animais infectados não altera o curso da doença
- Somente a vacinação não erradica a doença





Vacina RB 51 - I

- Amostra rugosa de B. abortus
- Derivada da amostra lisa 2308 de B. abortus por passagem em meio contendo concentrações subinibitórias de rifampicina
- Não induz o aparecimento de Ac detectáveis pelos testes diagnósticos de rotina
- · Vacina viva atenuada
- Amostra estável e de reduzida virulência
- Mutação no gene wboA (glicosiltransferase)

Vacina RB 51 - II

- Utilizada como vacina nos EUA desde de 1996
- Empregada atualmente nos EUA, Chile e Uruguai e em conjunto com B19 na África do Sul, Argentina, Brasil, Colômbia, Costa Rica, México, Paraguai e Venezuela
- Pode provocar aborto
- Cuidados na aplicação
- Patogênica para o homem?

Vacina RB 51 - III

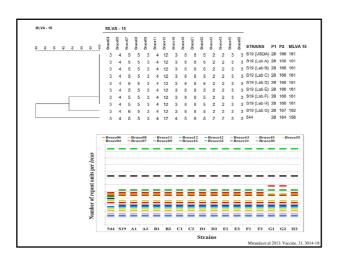
- No Brasil, permitida a vacinação de animais com idade superior a 8 meses
- Proteção semelhante a da B19 (65 75 %)
- Vacinação previne a brucelose clínica
- Vacinação de animais infectados não altera o curso da doenca
- Somente a vacinação não erradica a doença.

•			

Recomendações para utilização da RB51 no Brasil

- Vacinação de fêmeas bovinas com idade superior a 8 meses e que não foram vacinadas com amostra B19 entre 3 e 8 meses de idade;
- Vacinação de fêmeas bovinas adultas, não reagentes aos testes diagnósticos, em estabelecimentos de criação com focos de brucelose.

Avaliação da atividade biológica de vacinas B19 produzidas no Brazil (2005–2007) Normal residual virulence zone No protection zone No protection zone No protection zone Recovery Time 50 (weeks)



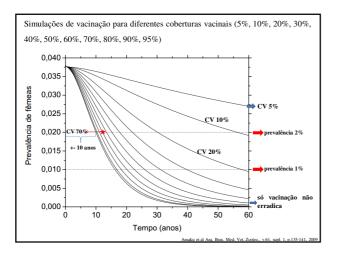
Os resultados mostram que as vacinas comerciais brasileiras (B19) contra a brucelose bovina estão de acordo com as normas brasileiras e internacionais, tanto para o parâmetro de imunogenicidade como de virulência residual.

O resultado do MLVA mostra que as vacinas apresentam estabilidade genética.

Miranda et al 2013. Vaccine. 31. 3014-1

Cuidados na Aplicação de Vacinas contra Brucelose

- Manter as vacinas sob refrigeração (4°C)
- Não congelar as vacinas
- Depois de reidratadas, utilizar as vacinas em um um prazo 2 4 h
- Utilizar equipamento de proteção individual
 - avental de mangas longas
 - óculos de proteção
 - máscaras
 - luvas
- Utilizar seringas descartáveis
- Descartar corretamente frascos, seringas e agulhas



_					
_					
_					
_					
_					
_					
_					
_					
_					
_					
_					
_					
_					
_					

Controle da Brucelose Bovina

- Vacinação
- Identificação dos animais infectados
- Separação dos animais infectados
- Sacrifício dos animais infectados
- Destruição de restos placentários e fetos abortados
- Desinfecção de instalações e utensílios
- Utilização de pasto maternidade
- Testes e quarentena na introdução de animais
- Educação Sanitária

_				