

BRUCELOSE OVINA NO RIO GRANDE DO SUL¹

Albino Magalhães Neto² e Carlos Gil-Turnes³

ABSTRACT.- Magalhães Neto A. & Gil-Turnes C. 1996. [**Brucella ovis infection of sheep in Rio Grande do Sul, Brazil.**] *Brucelose ovina no Rio Grande do Sul. Pesquisa Veterinária* 16 (2/3):75-79. Centro de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900 Pelotas, RS, Brazil.

Sera from 1536 rams and 102 teasers belonging to 76 herds in Rio Grande do Sul, Brazil, were tested by the immunodiffusion test for detection of *Brucella ovis* antibodies. Spermograms of 20 serologically negative, 16 serologically positive and 13 serologically and clinically positive rams were also performed. Antibodies were detected in 13.4% of the animals and clinical manifestations in 9.8%. Rams and teasers maintained on the field showed lower prevalences (12.6 and 11.7%) than confined rams (17.7%). Semen of negative rams showed higher percentage of normal spermatozooids (91%) than those of serologically positive (70%) and serologically and clinically positive (50%) ones. Herds using artificial insemination showed slightly higher prevalence (15.3%) than those using natural mating (12%). Serologically positive animals were detected in 48% of the herds using artificial insemination and in 46% of those using natural mating. It is concluded that *B. ovis* infection is still a threat for sheep breeding in this state.

INDEX TERMS: Ovine brucellosis, *Brucella ovis* infection.

SINOPSE.- Os soros de 1536 carneiros e 102 rufiões pertencentes a 76 rebanhos do Rio Grande do Sul foram submetidos ao teste de imunodifusão para detecção de anticorpos contra *Brucella ovis*. Realizaram-se, também, espermogramas de 20 carneiros negativos, 16 sorologicamente positivos e 13 clínica e sorologicamente positivos. Detectaram-se anticorpos em 13,4% e manifestações clínicas em 9,8% dos animais. Tanto os carneiros quanto os rufiões mantidos em condições de campo apresentaram prevalências menores (12,6 e 11,7%) que os carneiros de cabanha (17,7%). O sêmen de carneiros negativos apresentou maior porcentagem de espermatozoides normais (90%) que o de reagentes sorológicos (70%) e o de animais sorológica e clinicamente positivos (50%). As prevalências em rebanhos que usavam inseminação artificial e monta natural foram 15,3% e 12% e a de rebanhos com reagentes 48% e 46%, respectivamente. Conclui-se que a infecção por *B. ovis* continua sendo uma importante causa de perdas econômicas na ovinocultura regional.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Brucelose ovina, infecção por *Brucella ovis*.

INTRODUÇÃO

A brucelose ovina causada por *Brucella ovis*, também denominada epididimite dos carneiros, é uma doença própria dos ovinos e caprinos caracterizada por epididimite nos machos, aborto nas fêmeas e mortalidade perinatal de cordeiros, que diminuem a eficiência reprodutiva dos rebanhos provocando elevadas perdas econômicas à ovinocultura. Desde sua descrição na Nova Zelândia por Buddle & Boyes (1953) tem sido diagnosticada em praticamente todos os países onde se criam ovinos, com a exceção da Grã-Bretanha (Burgess 1982). No Rio Grande do Sul foi comunicada pela primeira vez pelos pesquisadores do Instituto de Pesquisa e Experimentação Agropecuária do Sul, com sede em Pelotas (Fernandes et al. 1996), que detectaram epididimites em 6,5% de 3317 carneiros estudados neste estado (Ramos et al. 1996). Blobel et al. (1972) produziram epididimite em carneiros com uma bactéria similar a *Brucella* isolada de dois carneiros de municípios da fronteira com o Uruguai e que apresentavam epididimite clínica.

O objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência de infecções por *Brucella ovis* entre carneiros pertencen-

¹ Aceito para publicação em 23 de maio de 1996.

² Centro de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, Rio Grande do Sul; bolsista CNPq (824129/89-0).

³ Centro de Biotecnologia, UFPel; bolsista CNPq (824129/89-0).

tes a rebanhos ovinos do Rio Grande do Sul, duas décadas após a primeira descrição de casos da doença na região.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais. Coletaram-se amostras de sangue de 1638 machos ovinos, dos quais 1536 carneiros e 102 rufiões de diferentes raças pertencentes a 76 estabelecimentos de cria de vinte municípios do Rio Grande do Sul. Destes 1271 estavam a campo, 265 em regime de cabanha e 102 eram rufiões a campo. A distribuição dos animais testados por município foi a seguinte: Santa Vitória do Palmar 15, Rio Grande 104, Pelotas 8, São Lourenço do Sul 5, Pedro Osório 215, Herval do Sul 336, Jaguarão 27, Pinheiro Machado 201, Bagé 12, Dom Pedrito 2, Livramento 22, Quaraí 37, Uruguaiana 124, Caçapava do Sul 2, Piratini 45, Encruzilhada do Sul 1, Canguçu 7, Pantano Grande 1, Passo Fundo 2 e Salvador do Sul 30. Testaram-se também soros de 442 carneiros comercializados no estado e exportados para o Uruguai, cuja origem não foi informada. Os animais foram submetidos a exame clínico, visando detectar anomalias ou lesões dos órgãos genitais (Alton et al. 1976).

Sorologia. Os soros foram submetidos à prova de imunodifusão em gel utilizando antígeno termoextraído de *Brucella ovis* CPZ 11 (cedida pelo Centro Panamericano de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina) obtido segundo a metodologia de Alton et al. (1976).

Sêmen. Coletou-se sêmen de 49 carneiros, sendo 20 sorologicamente negativos e sem manifestações clínicas de epididimite, 16 sorologicamente positivos e 13 clínica e sorologicamente positivos. As amostras foram obtidas por eletroejaculação ou vagina artificial, conservadas em salina formolada e coradas de Williams (1920). Observaram-se ao microscópio 200 espermatozóides por amostra, sendo classificados como normais, cabeça isolada, com defeitos de cabeça, de cauda e outros defeitos.

RESULTADOS

Apresentaram sorologia positiva 26 dos 448 carneiros de um ano de idade, 88 dos 649 de dois anos, 41 de 274 de três anos e 65 de 267 de quatro anos ou mais. Ao exame clínico apresentaram lesões 23, 47, 38 e 52 de cada grupo (Fig 1).

O número de machos das diferentes raças testados e a prevalência encontrada em cada uma comunica-se no Quadro 1.

De 1271 carneiros a campo, 265 mantidos em regime de cabanha e 102 rufiões testados, 161 (12,6%), 47 (17,7%) e 12(11,7), respectivamente, foram sorologicamente positivos (Fig 2).

As prevalências de reatores sorológicos e rebanhos com infecção em estabelecimentos que utilizavam inseminação artificial e monta natural comunica-se nos Quadros 2 e 3.

Os espermogramas demonstraram que no grupo sorologicamente negativo 91% dos espermatozóides eram

Quadro 1. Prevalência de reatores sorológicos a *Brucella ovis* por raça em 1638 machos ovinos, amostrados de 1988 a 1994 em estabelecimentos do Rio Grande do Sul

Raça	Positivos/Testados	Prevalência	Estabelecimentos
Corriedale	77/835	9.2	33
Ideal	45/353	12.7	21
Merino	37/186	19.9	5
R. Marsh	42/162	25.9	4
H. Down	7/31	22.6	4
Karakul	2/29	6.9	2
Suffolk	6/21	28.6	9
Ile de France	2/16	12.5	6
Texel	2/4	50	2
Border Leicester	0/1	0	1

Quadro 2. Prevalência de reatores sorológicos a *Brucella ovis* em carneiros provenientes de estabelecimentos que utilizam inseminação artificial ou monta natural

Ano	Carneiros			
	Inseminação artificial		Monta natural	
	+/T ^a	%	+/T	%
1988	5/133	3,7	0/28	0
1989	12/120	10	32/127	25,2
1990	6/100	6	20/130	15,4
1991	1/9	11,1	8/70	11,4
1992	46/152	30,3	17/183	9,3
1993	2/9	22,2	35/393	9
1994	36/183	19,7	0/1	0
Totais	108/706	15,3	112/932	12

^a + = reatores sorológicos, T = animais amostrados.

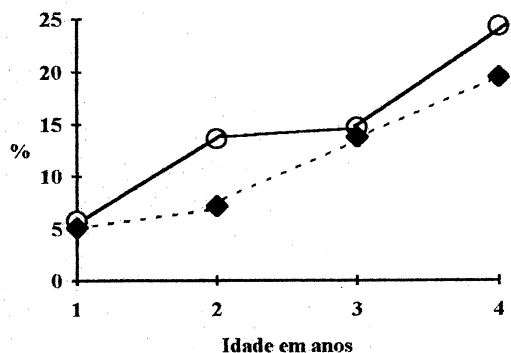


Fig 1. Prevalência por grupo etário de machos ovinos soropositivos a *Brucella ovis* (◆) e com manifestações clínicas (○) entre 1638 testados em estabelecimentos do Rio Grande do Sul de 1988 a 1994.

normais, 3% apresentavam cabeça isolada, 2% defeitos de cabeça, 3% de cauda e 1% outros defeitos. No grupo sorologicamente positivo 70% dos espermatozóides eram normais, 10% com cabeças isoladas, 4% com defeitos de cabeça, 10% de cauda e 6% com outros defeitos. No grupo sorológica e clinicamente positivo 50% dos espermatozóides eram normais, 25% apresentaram cabeças isoladas, 4%

Quadro 3. Presença de infecção por *Brucella ovis* em estabelecimentos que utilizam inseminação artificial ou monta natural

Ano	Estabelecimentos			
	Inseminação artificial		Monta natural	
	+/E ^a	%	+/E	%
1988	3/7	43	0/3	0
1989	7/12	58	7/9	78
1990	2/15	13	6/19	32
1991	1/2	50	3/7	43
1992	6/7	86	6/11	55
1993	2/4	50	6/11	55
1994	3/3	100	0/1	0
Totais	24/50	48	28/61	46

^a + = estabelecimentos com reatores, E= estabelecimentos amostrados.

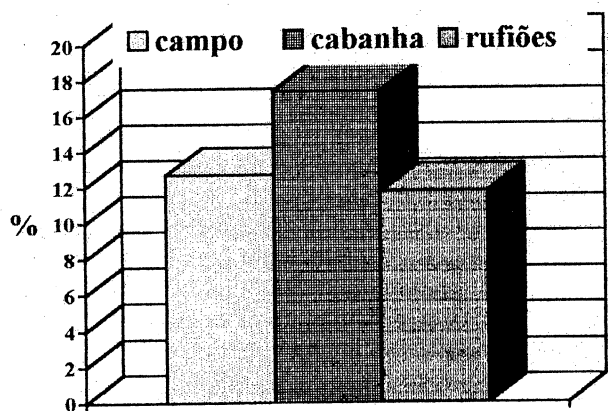


Fig 2. Prevalência de infecções por *Brucella ovis* em carneiros de campo, de cabanha e rufiões.

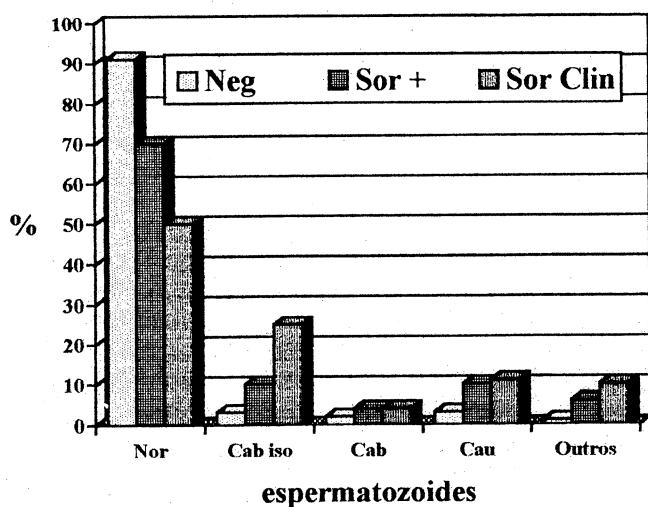


Fig 3. Espermatozoides normais, com cabeça isolada, defeitos de cabeça, defeitos de cauda e outros defeitos em carneiros negativos a *Brucella ovis*, sorologicamente positivos e clínica e sorologicamente positivos.

defeitos de cabeça, 11% de cauda e 10% outros defeitos (Fig. 3).

DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho demonstram que não tem havido progressos significativos no controle da brucelose ovina no Rio Grande do Sul nos últimos 25 anos podendo concluir-se que as medidas de controle ou não foram eficientes ou não foram atendidas pelos produtores. A Instrução de Serviço Nº 07/78 do Ministério da Agricultura que normatiza os requisitos sanitários mínimos a serem estabelecidos para participação de animais em exposições, feiras e outras aglomerações, exige para ovinos e caprinos atestado de exame negativo à soroglutinação contra a brucelose, tanto pela técnica rápida ou lenta ou pelo card test (Ministério da Agricultura 1978), técnicas que não detectam animais infectados por *Brucella ovis* (Suarez et al. 1988).

Fernandes et al. (1966) detectaram mediante a técnica de fixação do complemento que 9,5% de 1338 carneiros eram soropositivos a uma bactéria similar à brucela e que 18,6% apresentavam anomalias do aparelho genital que poderiam interferir na reprodução, enquanto Ramos et al. (1966) encontraram que 7,3% de 3317 carneiros estudados no estado apresentavam epididimite clínica. Estes índices são inferiores aos determinados em nosso trabalho no qual comprovou-se que dos 1638 ovinos machos estudados 13,5% tinham anticorpos contra *B. ovis* e 9,8% apresentavam manifestações clínicas de epididimite. Estas diferenças, que podem dever-se aos métodos de diagnóstico sorológico utilizados e à subjetividade do método clínico de avaliação, demonstram que a doença em lugar de haver diminuído estaria aumentando no rebanho ovino do Estado.

A distribuição geográfica da doença também parece não ter sofrido modificações. Ramos et al. (1966) detectaram epididimite em 14 dos 15 municípios por eles estudados, não encontrando doentes entre 128 carneiros pertencentes a três estabelecimentos de Uruguaiana. Em nosso trabalho a doença foi diagnosticada em 11 de 12 municípios estudados anteriormente por eles, assim como em outros cinco, não sendo detectados reatores em Dom Pedrito, Passo Fundo, Encruzilhada do Sul e Pantano Grande, em cada um dos quais estudou-se somente um estabelecimento com reduzido número de animais.

Ramos et al. (1966) encontraram a mais alta prevalência em animais da raça Romney Marsh (11,2%), enquanto em nosso trabalho ela foi detectada em animais da raça Suffolk (28,6%), raça que eles não testaram, seguida pela Romney Marsh com 25,9%. Estas diferenças podem se dever à metodologia de diagnóstico empregada, a imunodifusão em nosso trabalho e o exame clínico no de Ramos et al. (1966). Infecções subclínicas são responsáveis pelas maiores taxas dos diagnósticos sorológicos com relação aos clínicos.

Brucella ovis não é, porém a única causa de epididimite, havendo sido detectada em 79,5% dos carneiros maiores

de 2 anos com lesões epididimais enquanto *Histophilus ovis* e *Actinobacillus seminis* foram a causa mais frequente em animais de menor idade (Walker et al. 1986). Para estudar a possibilidade de infecções por *Actinobacillus seminis*, que podem dar reações cruzadas com *B. ovis* (Hajtkos et al. 1987), os soros de 44 carneiros que apresentavam epididimite clínica, 37 dos quais eram reatores a *B. ovis*, assim como outros 269, todos eles do Estado, foram testados pela técnica de imunodifusão com antígeno de *A. seminis*, sendo todos negativos (Rosa et al. 1994). A influência da idade na prevalência da doença foi também evidenciada em nosso trabalho, sendo demonstrado que as prevalências sorológica e de manifestações clínicas eram 4 vezes maiores nos animais com mais de 4 anos que a registrada no grupo de um ano de idade.

A prevalência da infecção foi levemente mais alta no grupo de carneiros utilizados em inseminação artificial que nos utilizados em monta natural, assim como nos mantidos em regime de cabanha que nos mantidos à campo, o que poderia ser devido a fatores de manejo, tais como concentração em espaços reduzidos e à possibilidade de transporte mecânico do agente pelo tratador. Mesmo assim, é necessário considerar que a taxa dos estabelecimentos que utilizavam inseminação artificial foi diferenciada por dois estabelecimentos estudados em 1994, com índices de 25 e 15%, e por outro em 1992, com 28,2%, indicando que deve ser considerada com reservas devido à influência que nela podem ter tido estabelecimentos problema.

Merece também destacar-se, mesmo sendo pequeno o número de amostras estudadas, que houve um incremento de espermatozoides com defeitos principalmente de cauda e cabeças isoladas, nos animais soropositivos com relação ao grupo controle, o que poderia explicar a diminuição da fertilidade que caracteriza a doença. Estas observações concordam com as de Kimberling (1990) e de Cameron et al. (1971) que consideraram a infecção por *B. ovis* como a mais importante causa de aspermia em carneiros sem manifestações clinicamente detectáveis, sendo cabeças isoladas e defeitos de cauda as alterações espermáticas mais frequentes.

A brucelose ovina tem na região, como pode comprovar-se pelas taxas detectadas em estabelecimentos que utilizavam monta natural (46%) e inseminação artificial (48%), uma disseminação tão importante quanto a verificada no Uruguai onde a metade dos estabelecimentos criadores de ovinos tem a infecção (Bermúdez et al. 1986). A informação sobre a importância da doença em outros estados é muito escassa. Marinho (1994) testou 850 soros de ovinos pertencentes a 18 rebanhos de 15 municípios do estado de São Paulo mediante as técnicas de imunodifusão e de fixação do complemento, sendo todos negativos. Estas comprovações salientam a importância de estabelecer rotinas de detecção da doença nos reprodutores comercializados no Estado.

Os resultados do presente trabalho demonstram que a brucelose ovina continua sendo uma doença de expressi-

va importância, em cujo controle não tem havido progresso desde que foi diagnosticada no Estado. Devido a que *B. ovis* pode provocar infecções subclínicas recomenda-se para considerar um animal como negativo que além do exame clínico seja realizado um exame sorológico (fixação do complemento, imunodifusão, ELISA) e/ou o exame bacteriológico de sêmen. A imunodifusão em gel com antígeno termoextraído, considerada de alta sensibilidade e especificidade (Hilbink et al. 1993), é um teste de fácil execução pelos veterinários com recursos limitados de laboratório que permitiria a detecção de portadores antes de seu ingresso na reprodução, medida de controle essencial que tem demonstrado sua eficácia no controle da doença (Burgess 1952).

Agradecimentos. - Os autores agradecem a participação dos bolsistas do CNPq Osmar Dacrocce (IC-806059/89-3), Flávia W. Da Cruz (IC-806059/89-3), Andrea Freitas Dos Santos (AP-824129/89), dos Médicos Veterinários J. Ferreira e S. R. Martins e da Laboratorista Alegani Monteiro, assim como o apoio financeiro da FAPERGS (Proc.0835/89).

REFERÊNCIAS

- Alton G.G., Jones L.M. & Pietz D.E. 1976. Las técnicas de laboratorios en la brucelosis. 2ª ed. Organización Mundial de la Salud, Ginebra.
- Bermúdez J., Olivera M., Bañalez P., Leániz R. & Cobo A.H. 1986. Epididimitis a *Brucella ovis*. Boletín Técnico, Laboratorios Santa Elena Montevideo, Uruguay. 9p.
- Blobel H., Fernandes J.C.T., Mies Filho A.A. & Trein E.J. 1972. Estudos sobre a etiologia da epididimite ovina no Rio Grande do Sul. Pesq. Agropec. Bras. 7:1-4.
- Buddle M.B. & Boyes B.W. 1953. A *Brucella* mutant causing genital disease of sheep in New Zealand. Aust. Vet. J. 29:145-159.
- Burgess G.W. 1982. Ovine contagious epididymitis: a review. Vet. Microbiol. 7:551-575.
- Cameron R.D.A.A., Carles A.B. & Lauerman Jr. L.H. 1971. The incidence of *Brucella ovis* in some Kenya flocks and its relationship to clinical lesions and semen quality. Vet. Rec. 88:552-557.
- Fernandes J.C.T., Louzada C.R.R., Silva M. & Schenck J.A.P. 1966-67. Levantamento sorológico parcial da epididimite ovina no Rio Grande do Sul. Anais SOVERGS, Porto Alegre, p. 16.
- Gamazo C., Winter A.J., Moriyón I., Riezu-Boj J.I., Blasco J.M. & Diaz R. 1989. Comparative analyses of proteins extracted by hot saline or released spontaneously into outer membrane blebs from field strains of *Brucella ovis* and *Brucella melitensis*. Infect. Immunol. 57:1419-1426.
- Hajtkós I., Fodor R., Glávits R. & Varga J. 1987. Isolation and characterization of *Actinobacillus seminis* strains from ovine semen samples and epididymitis. J. Vet. Med. B34:138-147.
- Hilbink F., Wright M. & Ross G. 1993. Use of the double gel diffusion test and the enzyme-linked immunosorbent assay to distinguish false from true reactors in the complement fixation test for *Brucella ovis*. N. Z. Vet. J. 41:111-115.
- Kimberling C.V. & Marsh D. 1994. Ram breeding soundness evaluation. Proc. Small Ruminant Short Course, Am. Coll. Theriogenologists and Society for Theriogenology, Hastings, NE, USA, p. 55-71.
- Marinho M. 1994. Estudo sorológico sobre a brucelose em ovinos do Estado de São Paulo. Tese de Mestrado, Unesp, Jaboticabal, S. Paulo. 64 p.
- Ministério da Agricultura 1978. Instrução de Serviço Nº 07/78, Divisão de Defesa Sanitária Animal, Departamento Nacional de Produção Animal, Brasília, 23 de janeiro.

- Ramos A.A., Mies Filho A., Schenck J.A.P., Vasconcellos L.D., Prado O.T., Fernandes J.C.T. & Blobel H. 1966. Epididimite ovina. Levantamento clínico no Rio Grande do Sul. *Pesq. Agropec. Bras.* 1:211-213.
- Rosa C.M., Zortea D., Da Cruz F. & Gil-Turnes C. 1994. Levantamento sorológico de infecções por *Actinobacillus seminis* em carneiros. In: *Anais XII Congr. Est. Med. Vet., SOVERGS, Porto Alegre*, p. 38.
- Suarez C.E., Pacheco G.A. & Vigliocco A.M. 1988. Characterization of *Brucella ovis* surface antigens. *Vet. Microbiol.* 18:349-356.
- Walker R.L., LeaMaster B.R., Stellflug J.N. & Biberstein E.L. 1986. Association of age of ram with distribution of epididymal lesions and etiologic agent. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188:393-399.
- Williams W.W. 1920. Technique of collecting semen for laboratory examination with a review of several diseased bulls. *Cornell Vet.* 10:87-94.