

DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI – *Brucella abortus* EM HUMANOS NA CIDADE RIBEIRINHA DE PORTO FIGUEIRA – PARANÁ

Danilo Ratti¹
Adalgiza Pinto Neto²
Aristeu Vieira da Silva³
Lisiane de Almeida Martins²

RATTI¹, D.; PINTO-NETO², A.; SILVA³, A. V.; MARTINS², L. A. de. Detecção de anticorpos anti - *Brucella abortus* em humanos na cidade ribeirinha de Porto Figueira – Paraná. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 14, n. 1, p. 37-39, jan./jun. 2011.

RESUMO: A brucelose é uma doença infecto-contagiosa provocada por bactérias do gênero *Brucella*, que ocasiona problemas de saúde importantes nos indivíduos que ingerem alimentos contaminados ou mantém um contato com animais infectados, podendo determinar quadros agudos, subagudos e principalmente, crônicos. Objetivou-se detectar anticorpos anti-*Brucella abortus* em humanos que vivem na cidade ribeirinha de Porto Figueira, PR, de forma a verificar o grau de infecção nesses humanos. Foram coletadas 99 amostras de sangue humano, e foram examinadas pelo Método de Soroaglutinação para detecção de anticorpos anti-*Brucella abortus*. Obteve-se 0,0% de resultados positivos para anticorpos anti-*Brucella abortus*, demonstrando a não contaminação dos humanos. Obteve-se 0,0% de resultados positivos para anticorpos anti-*Brucella abortus*, demonstrando a não contaminação dos humanos.

PALAVRAS-CHAVE: *Brucella abortus*. Humanos. Anticorpos.

DETECTION OF ANTIBODY ANTI – *Brucella abortus* IN HUMAN BEING IN THE RIVERSIDE TOWN OF PORTO FIGUEIRA – PARANA – BRAZIL

ABSTRACT: Brucellosis is an infectious disease caused by bacteria of the genus *Brucella*, which causes major health problems in people who ingest contaminated food or maintains contact with infected animals, may determine the acute, subacute and especially chronic. The objective was to detect antibodies to *Brucella abortus* in humans living in the riverside town of Porto Figueira, PR, in order to verify the degree of infection in these people. We collected 99 samples of human blood, and were examined by the agglutination test method for detecting antibodies to *Brucella abortus*. We obtained 0.0% positive results for anti-*Brucella abortus*, showing no contamination of humans.

KEYWORDS: *Brucella abortus*. Human. Antibodies.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI – *Brucella abortus* EN HUMANOS DE LA CIUDAD DE PORTO FIGUEIRA – PARANÁ

RESUMEN: La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa provocada por bacterias del género *Brucella*, que ocasiona problemas de salud importantes en los individuos que ingieren alimentos contaminados o mantienen contactos con animales infectados, pudiendo determinar cuadros agudos, subagudos y principalmente crónicos. Se buscó detectar anticuerpos anti-*Brucella abortus* en humanos que viven en la ciudad de Porto Figueira – PR, cerca a un río, de forma a verificar el grado de infección en esos humanos. Se colectó 99 muestras de sangre humano, y fueron examinadas por el Método de Suero aglutinación para detección de anticuerpos anti-*Brucella abortus*. Se alcanzó 0,0% de resultados positivos para anticuerpos anti-*Brucella abortus*, no demostrando contaminación de los humanos.

PALABRAS CLAVE: *Brucella abortus*. Humanos. Anticuerpos.

Introdução

A distribuição mundial da brucelose em seres humanos é de cerca de 500 mil casos por ano, com letalidade de 1-6% dos casos não tratados (MELLO et al. 2007).

A brucelose é uma doença infecto-contagiosa provocada por bactérias do gênero *Brucella*, e sendo uma zoonose de distribuição universal, acarreta problemas sanitários e econômicos em grande escala. A *Brucella abortus* tem como seu reservatório natural os bovinos e bufalinos, e o homem é acidentalmente afetado. A infecção do homem por *B. abortus* está associada ao consumo de produtos contami-

nados, e ao contato direto com animais infectados (MELLO et al. 2007).

No homem a brucelose não apresenta um quadro clínico característico que permita uma detecção precoce no paciente, o que favorece a evolução para a cronicidade, complicando nas possíveis alternativas terapêuticas (CASTRO; GONZÁLEZ; PRAT, 2005). O diagnóstico da brucelose pode ser feito pela identificação de agente por métodos Diretos, ou pela detecção de anticorpos contra *B. abortus* por métodos Indiretos ou Soroaglutinação (BRASIL, 2006).

A brucelose, descrita por David Bruce em 1886, é causada por microorganismos do gênero *Brucella*, cocobaci-

¹Academico do Curso de medicina Veterinária da UNIPAR – Umuarama- Bolsista PEBIC/Fundação Araucária

²Docente curso de Medicina Veterinária e Mestrado em Ciência Animal da UNIPAR – Umuarama – PR

³Docente Universidade Estadual de Feira de Santana - BA

los Gram-negativos imóveis. Não formam cápsulas, esporos ou flagelos. Sua respiração é aeróbica, mas algumas cepas requerem um complemento de 5% a 10% de CO₂ para seu crescimento (REYES; VILLAROEL, 2006). Sua medida é 0,4 a 2,5 µm de comprimento por 0,4 a 0,8 µm de largura. Encontram-se em geral isoladas, e em menor frequência, aos pares, ou em pequenos grupos. Podem apresentar-se em cultivos primários com morfologia colonial lisa ou rugosa. Essa morfologia está diretamente associada à composição bioquímica do lipopolissacarídeo da parede celular, e para algumas espécies tem relação com a virulência (BRASIL, 2006)

A temperatura ótima para as brucelas é de 37°C. Muito sensíveis ao calor, são destruídas em 10 minutos quando colocadas a 63°C. Também são muito sensíveis ao álcool a 96%. No entanto, são muito resistentes ao frio e à dessecação (FOCACCIA, 2005).

Sendo uma zoonose, a infecção por contato é frequente entre pessoas que trabalham com animais ou seus produtos, tais como veterinários, magarefes, funcionários de frigoríficos e os que ordenham vacas (CASTRO; GONZÁLEZ; PRAT, 2005).

Ao infectar o homem as brucelas penetram nas células epiteliais da pele ou da mucosa e na submucosa e são, em parte, fagocitadas por polimorfonucleares ou por macrófagos teciduais. Ao alcançar os linfonodos regionais, se a resposta imune for insuficiente para reter todos os microorganismos no linfonodo, segue-se uma bacteremia. E em poucas horas através da corrente sanguínea as brucelas se localizam no baço, no fígado e na medula óssea (FOCACCIA, 2005).

Alguns sinais clínicos são febre, seguida ou não por tremores, dores de cabeça, calafrios, anorexia, fadiga, perda de peso, artrite e sintomas neurológicos (RAMOS et al., 2008).

O diagnóstico da brucelose é realizado por meio do isolamento da *Brucella* ou pela detecção de anticorpos em soro de animais e humanos infectados. A identificação indireta da infecção por intermédio de testes sorológicos é a mais utilizada devido à maior sensibilidade quando comparada ao procedimento de isolamento da bactéria (STARK et al., 2008).

Objetivo

Verificar a ocorrência da infecção pela *Brucella abortus* em humanos na cidade ribeirinha de Porto Figueira – Paraná.

Materiais e Métodos

As 99 amostras de sangue foram coletadas de indivíduos residentes de Porto Figueira, durante uma campanha de vacinação antirábica canina, organizada pela Prefeitura Municipal de Alto Paraíso. Ao trazer o seu animal, o indivíduo era consultado, pelo responsável pela pesquisa, a participar do projeto. Neste momento era explicada, a natureza da coleta, os exames que seriam realizados e apresentados os termos de consentimento esclarecido.

Foram coletadas amostras de 10 mL de sangue pela punção da veia cefálica. As coletas de material humano foram realizadas por farmacêutico-bioquímico.

As amostras foram imediatamente transferidas para

tubos de ensaio e transportadas sob refrigeração até o laboratório de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública. No laboratório as amostras foram centrifugadas para separação do soro, e armazenadas a -20°C até a realização do teste de detecção de anticorpos anti-*Brucella abortus*.

As amostras de soro foram avaliadas quanto a presença de anticorpos anti-*Brucella abortus* pelo teste do Antígeno Acidificado Tamponado (BRASIL, 2006). É preparado com o antígeno na concentração de 8%, tamponado em pH ácido (3,65) e corado com o corante Rosa de Bengala. É uma prova qualitativa, pois não indica o título de anticorpos do soro testado. A leitura revela a presença ou a ausência de IgG1. Nas provas clássicas de aglutinação, reagem tanto anticorpos IgM como IgG, enquanto que, nessa prova, reagem somente os isotipos da classe IgG1. O pH acidificado da mistura soro-antígeno inibe a aglutinação do antígeno pelas IgM. O AAT detecta com maior precocidade as infecções recentes, sendo, nesse aspecto, superior à prova lenta em tubos (BRASIL, 2006).

Para execução do teste, após equilibrar a temperatura de soros e do antígeno à temperatura ambiente por 30 minutos, 30 µL de cada amostra de soro foi aplicada em uma placa de vidro apropriada para a leitura da prova, e ao lado de cada amostra de soro, aplicados 30 µL do antígeno. Imediatamente as amostras serão homogeneizadas com o antígeno, sendo a placa agitada por movimentos circulares por quatro minutos. A seguir a placa foi colocada na caixa de Huddleson e procedida a leitura dos resultados, ou seja, a verificação da formação ou não de aglutinação entre o antígeno e as amostras de soro. Não foram consideradas aglutinações que ocorreram após os quatro minutos.

Foram usadas também neste trabalho as provas de SAL (Soroaglutinação Lenta) e 2-ME (2-Mercaptoetanol) para confirmar os resultados obtidos pela prova rápida – Antígeno Acidificado Tamponado (AAT).

O teste de soroaglutinação em tubos (SAT), também conhecido como soroaglutinação lenta (SAL), porque a leitura dos resultados é feita em 48 horas. É uma prova que permite identificar uma alta proporção de animais infectados, porém, pode apresentar resultados falso-negativos, no caso de infecção crônica e, em algumas situações, podem aparecer títulos significativos em animais não infectados por *B. abortus* como decorrência de reações cruzadas com outras bactérias.

E por fim a 2-Mercaptoetanol (2-ME), que é uma prova quantitativa seletiva que detecta somente a presença de IgG no soro, que é a imunoglobulina indicativa de infecção crônica.

Resultados e Discussão

Das 99 amostras coletadas, duas (2,02%) delas foram positivas a anticorpos anti-*Brucella abortus* pelo teste do Antígeno Acidificado Tamponado. As amostras reagentes ao AAT, foram reexaminadas aos testes de SAL e 2-ME, resultando em uma amostra negativa e uma amostra inconclusiva. Desta forma, o aconselhável é a nova colheita de amostras destes dois indivíduos para estudo dos títulos de anticorpos, o que poderia caracterizar uma infecção recente ou crônica.

Lopes et al. (1992) observou em estudo desenvolvido no México que as mulheres foram as mais afetadas pela

brucelose, com soroprevalência (48%) maior que a dos homens, e a faixa etária com maior prevalência foram entre 20 e 39 anos

Em trabalho realizado na área rural da província de Lleida, Espanha, foram investigados 10, 14, 15 e 16 casos para os anos 1995, 1996, 1997 e 1998 respectivamente, e avaliados pelo método de AAT com cepa de *B. abortus* 99, e SAL com cepa de *B. abortus* ATCC 1119, resultando um número de casos quatro vezes superior nos homens (81,8%) do que nas mulheres (18,2%), e a maioria dos pacientes trabalhava em atividades de risco de infecção. A maioria dos pacientes desenvolve uma atividade profissional de risco de contágio. Foi possível verificar que a idade média dos homens foi de 41 anos, e a idade média das mulheres foi de 46 anos. Estes resultados foram obtidos pelo teste de AAT e SAL. (ALVAREZ; GARCÍA, 2000)

Na Bósnia-Herzegovina (HAMZIC et al., 2005) foram estudados 286 soros de humanos, verificando-se 20,62% positivos, com 64,40% homens e 35,60% mulheres. Os indivíduos soropositivos concentraram-se na faixa etária de 31-40 (22,03%) e 41-50 anos (22,03%).

De acordo com Gonçalves (2006) em um trabalho realizado em abatedouro de bovinos no norte do Paraná, verificou-se que 0,66% de 150 amostras de soros de funcionários foram positivas para brucelose.

Conclusão

No presente estudo não foram encontradas amostras positivas para *Brucella abortus* de sangue humano coletado na cidade de Porto Figueira - PR. Mesmo duas amostras tendo-se demonstradas positivas no exame AAT confirmam-se como negativas pelo teste de Soroaglutinação Lenta e 2-Mercaptoetanol.

Referências

ALVAREZ, J. S.; GARCÍA, P. G. Incidencia, etiologia y epidemiologia de la brucelosis en una área rural de la província de Lleida. **Rev. Esp. Sal. Públ.** v. 74, n. 1, p. 45-53, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa nacional de controle e erradicação da brucelose e da tuberculose animal**. Brasília: MAPA/DAS/DAS. 2006. 184 p.

CASTRO, H. A.; GONZÁLEZ, S. R.; PRAT, M. I. Brucelosis: uná revisión práctica. **Acta Bioquímica Clínica Latinomaericana**, v. 39, n. 2, p. 203-216, 2005.

FOCACCIA, R. **Veronesi**: tratado de infectologia. São Paulo: Atheneu, 2005.

GONÇALVES, D. D. et al. Seroepidemiology and occupational and environmental variables for leptospirosis, brucellosis and toxoplasmosis in slaughterhouse workers in the Paraná State, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v. 48, n. 3, p. 135-140, 2006.

HAMZIC, S. et al. Serotesting of human brucellosis on

wider area of Bosnia and Herzegovina, Bosn. **J. Basic Med. Sci.** v. 5, n. 3, p. 46-49, 2005.

LÓPEZ, M. A. et al. Seroepidemiology of brucellosis in Mexico. **Sal. Publ. Mex.** v. 34, n. 2, p. 230-240, 1992.

MELLO, C. C. F. et al. Espondilodiscite por brucelose: relato de caso. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 40, n. 4, p. 469-472, 2007.

REYES J. A.; VILLAROEL B. J. Brucelosis en un escolar. **Rev. Chil. Infect.** v. 23, n. 4, p. 351-358, 2006.

RAMOS, T. R. R. et al. Epidemiological aspects of an infection by *Brucella abortus* in risk occupational groups in the microregion of Araguaína, Tocantins. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 2, p. 133-138, 2008.

STARK, C. B. et al. **Pesquisa de anticorpos anti-brucela em animais de tração atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal de Pelotas**. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R1348-1.pdf>>. Acesso em: 30 jun. 2009.

Recebido em: 29/03/2010

Aceito em: 07/03/2012