

ALIAÇÃO DE ANTICORPOS VACINAIS EM BEZERRAS BUBALINAS NO DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE BUBALINA PELO SCAB – Ao longo de 600 dias de acompanhamento

Nardi Junior, G

*Docente do curso de Tecnologia em Agronegócio da Faculdade de Tecnologia de Botucatu, Fatec,Bt,
geraldo.nardi@fatec.sp.gov.br*

*Evaluation of Vaccinal Antibodies in Buffalo Calves in the Diagnosis of Buffalo Brucellosis By Scab - Over 600
Days of Follow-Up*

Eixo Tecnológico: Ambiente e Saúde

Resumo

A brucelose em bubalinos e bovinos é reconhecida como doença infecto-contagiosa causada pela *Brucella abortus* (*B. abortus*), caracterizada por manifestações clínicas da esfera reprodutiva e severos prejuízos aos produtores. As investigações sorológicas voltadas à brucelose bubalina no Brasil praticamente estão restritas à comparação de animais reagentes frente às diferentes técnicas diagnósticas. Com efeito, são escassos os estudos no país conduzidos no acompanhamento sorológico de bezerras bubalinas vacinadas, conforme as recomendações do PNCEBT, particularmente no que tange ao uso das provas confirmatórias do 2-mercaptoetanol e fixação de complemento. O presente estudo avaliou o perfil sorológico anti-*Brucella abortus* em bezerras bubalinas, vacinadas entre 3 a 8 meses com a B19, utilizando o teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) recomendado pelo PNCEBT, com vistas a contribuir para o diagnóstico e controle da brucelose em bubalinos no Brasil e utilizou o sistema de cadastro e análise da brucelose - SCAB. Na prova do AAT, aos 15 dias pós-vacinais, 20 (95,2%) das 21 fêmeas bubalinas vacinadas entre 3 a 8 meses com a vacina B19 apresentaram-se reagentes. Nesta prova um (4,8%) animal mostrou-se reagente somente no 60º dia pós-vacinal. Entre o 60º e 120º dias pós-vacinais todos os animais foram reagentes. Aos 150 dias de acompanhamento, dois (9,5%) animais não se apresentaram reagentes. Entre o 180º e 210º dias pós-vacinais foi observado declínio do número de animais reagentes. O SCAB foi utilizado em paralelo ao AAT e se mostrou compatível com os resultados encontrados. Cabe aos profissionais do agronegócio a correta informação aos proprietários e criadores para que animais vacinados não sejam considerados reagentes quando testados fora do tempo preconizado.

Palavras-chave: *Brucelose, Bubalinos, Anticorpos, Vacina, Diagnóstico.*

Abstract

Brucellosis in buffaloes and cattle is recognized as an infectious disease caused by *Brucella abortus* (*B. abortus*), characterized by clinical manifestations in the reproductive sphere and severe damage to producers. Serological investigations focused on buffalo brucellosis in Brazil are practically restricted to the comparison of reagent animals in the face of different diagnostic techniques. Indeed, there are few studies in the country conducted in the serological monitoring of vaccinated buffalo heifers, according to the recommendations of the PNCEBT, particularly with regard to the use of confirmatory tests of 2-mercaptoethanol and complement fixation. The present study evaluated the anti-*Brucella abortus* serological profile in buffalo heifers, vaccinated between 3 and 8 months with B19, using the buffered acidified antigen test (AAT) recommended by the PNCEBT, in order to contribute to the diagnosis and control of brucellosis in buffaloes in Brazil and used the brucellosis registration and analysis system - SCAB. In the AAT test, at 15 days post-vaccination, 20 (95.2%) of the 21 female buffaloes vaccinated between 3 and 8 months with the B19 vaccine were reactive. In this test, one (4.8%) animal was reactive only on the 60th post-vaccination day. Between the 60th and 120th days post-vaccination, all animals were reactive. At 150 days of follow-up, two (9.5%) animals were not reactive. Between the 180th and 210th days post-vaccination, a decline in the number of reactive animals was observed. SCAB was used in parallel with AAT and proved to be compatible with the results found. It is up to agribusiness professionals to provide correct information to owners and breeders so that vaccinated animals are not considered reagents when tested outside the recommended time.

Key-words: *Brucellosis, Buffaloes, Antibodies, Vaccine, Diagnosis.*

1. Introdução

A brucelose em bubalinos e bovinos é reconhecida como doença infecto-contagiosa causada pela *Brucella abortus* (*B. abortus*), caracterizada por manifestações clínicas da esfera reprodutiva e severos prejuízos aos produtores [1].

O sistema de manejo extensivo, as dificuldades do sucesso de programas de controle sanitário em países com grandes rebanhos e com extensa dimensão territorial, e o conceito equivocado de que os bubalinos são altamente resistentes às doenças que acometem os bovinos, são fatores que dificultam o controle da brucelose em bubalinos [2]. Outros autores apontaram evidências de características distintas na cadeia epidemiológica da brucelose em bovinos e bubalinos, que reforçam a necessidade de investigações específicas com a doença em bubalinos, visto que a maioria dos estudos enfoca a doença na espécie bovina [3].

A espécie bubalina apresenta como características peculiares a sua grande rusticidade e adaptabilidade a fatores climáticos, topográficos e solos pobres, somadas à dupla aptidão para produção de carne e leite, o que a torna boa alternativa para a produção de proteína animal, principalmente em países tropicais como o Brasil [4]. O estreito contato com a espécie bovina, o padrão extensivo de criação dos bubalinos, o acesso contínuo desses animais a diversos tipos de ecossistemas, o hábito da espécie bubalina em banhar-se visando a termorregulação corpórea, bem como o pastoreio em aguadas e tanques tornam esta espécie francamente exposta às infecções, incluindo a brucelose [5].

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose - PNCEBT [6], deflagrado em 2001, preconiza que o sorodiagnóstico da brucelose em fêmeas bubalinas seja realizado a partir dos 24 meses de idade, nas bezerras vacinadas com a B19 entre 3 a 8 meses de idade, utilizando as provas do antígeno acidificado tamponado (corado com rosa bengala) [AAT], 2-mercaptoetanol (2-ME) e/ou fixação de complemento (FC). Tal recomendação faz-se necessária no intuito de evitar dificuldades na interpretação das provas sorológicas, decorrentes da presença de imunoglobulinas (Ig) residuais de origem vacinal, que poderiam dificultar a diferenciação entre animais infectados e doentes.

As investigações sorológicas voltadas à brucelose bubalina no Brasil praticamente estão restritas à comparação de animais reagentes frente às diferentes técnicas diagnósticas. Com efeito, são escassos os estudos no país conduzidos no acompanhamento sorológico de bezerras bubalinas vacinadas, conforme as recomendações do PNCEBT, particularmente no que tange ao uso das provas confirmatórias do 2-mercaptoetanol e fixação de complemento.

O presente estudo avaliou o perfil sorológico anti-*Brucella abortus* em bezerras bubalinas, vacinadas entre 3 a 8 meses com a B19, utilizando o teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) recomendado pelo PNCEBT, com vistas a contribuir para o diagnóstico e controle da brucelose em bubalinos no Brasil e utilizou o sistema de cadastro e análise da brucelose – SCAB, em desenvolvimento pela Faculdade de Tecnologia de Botucatu, SP.

2. Materiais e métodos

2.1. Materiais

2.1.2. Animais

Anais da VII Mostra de Docentes em RJI

Foram utilizadas no estudo 21 bezerras bubalinas (*Bubalus bubalis*), entre 3 a 8 meses de idade, da raça Murrah e mestiças, clinicamente sadias, criadas em sistema semi-extensivo.

2.1.3. Vacinação

A vacina utilizada constitui-se de produto comercial, preparado com a cepa padrão B19 (*B. abortus*), atenuada, liofilizada, com teste de unidades bacterianas viáveis e com resultado negativo no teste de esterilidade para outros microrganismos.

Todos os 21 animais foram vacinados via subcutânea, atrás da escápula, na região das costelas, com dose de 2 mL. Antes da vacinação foi realizada antissepsia local utilizando álcool (70%) iodado (1%). No momento da vacinação, a vacina ficou acondicionada entre 4 C a 8 C, utilizando isopor e gelo reciclável, conforme orientação do fabricante.

Não foi estabelecido grupo controle não vacinado, em virtude da obrigatoriedade da vacinação do rebanho.

As amostras de sangue de todos os animais foram colhidas da veia jugular, com vistas a obtenção de soro para as provas diagnósticas. Em seguida, o soro sanguíneo foi cuidadosamente separado do coágulo, evitando hemólise. Os soros obtidos foram alíquotados em duplicata em ependorfes de 2 mL e estocados à temperatura de congelamento (-20 C), até o momento da realização dos testes.

Antes da vacinação, foi realizada a colheita de sangue dos 21 animais, constituindo-se no dia zero do estudo.

As quatro colheitas subsequentes ao dia zero foram realizadas em intervalos de 15 dias (15, 30, 45 e 60 dias pós-vacinação) e, em seguida, em intervalos de 30 dias, perfazendo assim 90, 120, 150, 180, 210 dias pós-vacinais.

2.2. Metodologia

2.2.1. Prova do antígeno acidificado tamponado (AAT)

A técnica do AAT foi realizada conforme recomendação do PNCEBT do MAPA [6].

Os resultados foram interpretados a partir da presença de reação de aglutinação, indicado pela formação de grumos nos animais reagentes e ausência dos mesmos nos animais não reagentes.

2.2.2. Utilização do "SISTEMA DE DIGITALIZAÇÃO E PROCESSAMENTO DE INFORMAÇÕES PARA O DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE - SCAB"

Com vistas a fornecer subsídios para o diagnóstico e controle da brucelose bubalina foi utilização do software (SCAB) desenvolvido pelo autor na Fatec-Bt, para o diagnóstico da brucelose na prova do AAT comparando o resultado com o tradicional. Maximizando a utilização do software, adaptando-o também a brucelose bubalina.

3. Resultados e Discussão

A persistência de Ig séricas pós-vacinais e a ocorrência de reações inespecíficas nos métodos sorológicos convencionais têm-se constituído no principal entrave no sorodiagnóstico da doença em bubalinos. Dentre estas reações inespecíficas incluem-se as reações cruzadas entre as linhagens lisas (*B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*) ou com outros microrganismos Gram-negativos, quais sejam dos gêneros *Pasteurella*, *Francisella*, *Proteus*, *Campylobacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Escherichia* e *Yersinia* (0:9) [7;8].

Anais da VII Mostra de Docentes em RJJ

Bubalinos e bovinos vacinados com a cepa padrão B19 apresentam predomínio da classe IgM, que mostram concentrações máximas por volta do 13o dia após a vacinação, enquanto a classe IgG é observada em pequenas quantidades, com picos máximos entre o 28o e o 42o dia pós-vacinais [9].

Após a deflagração do PNCEBT no Brasil, em 2001, a prova do AAT tem sido utilizada como método de rotina, com detecção preferencialmente da classe IgG nesta prova, fato que limita a identificação de animais no início de infecção [6].

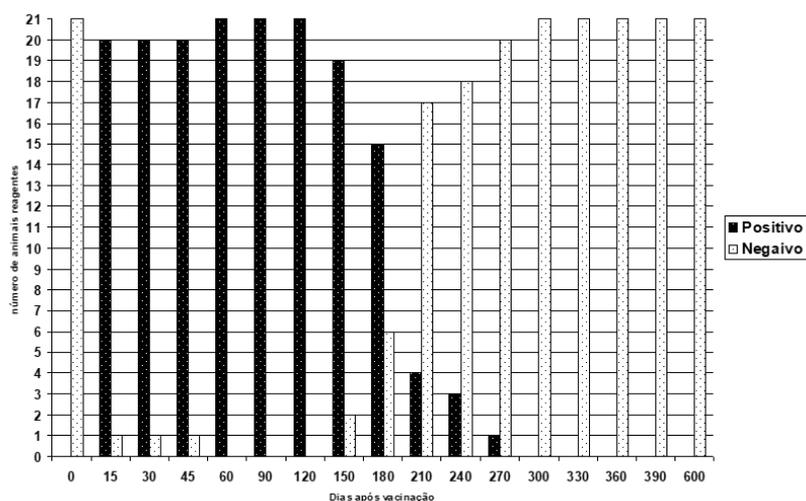
Na prova do AAT, a presença de qualquer reação de aglutinação classifica o animal como reagente. A critério do médico veterinário, os animais reagentes no AAT poderão ser submetidos às provas confirmatórias do 2-ME ou FC [9;10].

A vacinação com a cepa atenuada B19 é recomendada para bezerras entre 3 a 8 meses de idade visto que estes animais ainda não são sexualmente maduros, impedindo a patogenicidade da cepa vacinal nas fêmeas vacinadas. Ademais, as bezerras vacinadas tornam-se negativas ao atingirem a idade de cobertura [11]. Outros autores afirmaram que 90% das fêmeas vacinadas entre 3 e 8 meses resultaram negativas em testes sorológicos convencionais após nove meses da vacinação [12]. Portanto, a idade das fêmeas na época da vacinação é um fator limitante no uso da vacina B19, visto que em animais vacinados após oito meses de idade, os anticorpos oriundos da vacinação não são diferenciados dos produzidos por linhagens de campo nas provas sorológicas de rotina [11].

Autores [13] investigaram o perfil de aglutininas anti-*B. abortus* em bezerras bubalinas entre 3 a 8 meses, vacinadas com a dose padrão da B19. Foi observado que os títulos sorológicos máximos nas provas convencionais ocorreram entre o 15o e o 45o dia após a vacinação.

Segundo os resultados na prova do AAT, aos 15 dias pós-vacinais, 20 (95,2%) das 21 fêmeas bubalinas vacinados entre 3 a 8 meses com a vacina B19 apresentaram-se reagentes. Nesta prova um (4,8%) animal mostrou-se reagente somente no 60o dia pós-vacinal (animal 20). Entre o 60o e 120o dias pós-vacinais todos os animais foram reagentes. Aos 150 dias de acompanhamento, dois (9,5%) animais não se apresentaram reagentes. Entre o 180o e 210o dias pós-vacinais foi observado declínio do número de animais reagentes (Fig.1).

Fig. 1 -Perfil sorológico de bezerras bubalinas vacinadas com a estirpe B19 de *B. abortus* entre 3 a 8 meses de idade, na prova do antígeno acidificado tamponado (AAT), ao longo de 600 dias de acompanhamento.



Fonte: Elaboração própria

Anais da VII Mostra de Docentes em RJI

Os resultados do AAT quando submetidos pela análise do sistema SCAB foram corroborados, porém tivemos que fazer ajustes com relação a especificidade e sensibilidade do sistema no tocante a brucelose bubalina.

4. Conclusões

Podemos considerar que fêmeas bubalinas vacinadas contra brucelose entre 3 a 8 meses de idade com a vacina B19 quando submetidas ao teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) até os 210 dias pós-vacinais apresentam-se reagentes e podem ser confundidas com animais positivos, portanto um acompanhamento até os 2 anos de idade se faz necessário conforme preconizado pelo PNCEBT.

O SCAB demonstrou-se efetivo na realização do AAT, embora mais ajustes na sua programação devem ser realizados.

Cabe aos profissionais do agronegócio a correta informação aos proprietários e criadores para que animais vacinados não sejam considerados reagentes quando testados fora do tempo preconizado.

Referências

- [1] ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3.ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2003. p.28-56.
- [2] GUARINO, A.; FUSCO, G.; DI MATTEO, A.; URBANI, G.; CONDOLEO, R.; SERPE, L.; TITTARELLI, M.; DI VENTURA, M.; GALLO, P. Indirect ELISA for the diagnosis of brucellosis in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Italy. **Vet. Rec.**, v.21, p.88-90, 2001.
- [3] FOSGATE, G.T.; ADESIYUN, A.A.; HIRD, D.W.; JOHNSON, W.O.; HIETALA, S.K.; SCHRIG, G.G.; RYAN, J. Comparison of serologic tests for detection of *Brucella* infections in cattle and water buffalo (*Bubalus bubalis*). **Am. J. Vet. Res.**, v.63, p.1598-1605, 2002.
- [4] NARDI JÚNIOR, G. **Perfil de anticorpos anti-*Leptospira* spp em búfalas (*Bubalus bubalis*) vacinadas com dois tipos de vacinas comerciais anti-leptospirose (Bacterina e Membrana externa)**. São Paulo, 2005. 89p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- [5] NARDI JÚNIOR, G.; GENOVEZ, M.E.; RIBEIRO, M.G.; CASTRO, V.; JORGE, A.M. Interference of vaccinal antibodies on serological diagnostic of leptospirosis in vaccinated buffalo using two types of commercial vaccines. **Braz. J. Microbiol.**, v.38, p.363-368, 2007.
- [6] BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Defesa Animal. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/sda/dda/programa.htm>>. Acesso em: 8 jul. 2022.
- [7] LÁZARO, N.S.; HOFER, E. Cross-reactions between *Yersinia enterocolitica* serotype 9 and *Brucella* spp in bovine and swine sera, in the area of Rio de Janeiro. **Pesqui. Vet. Bras.**, v.16, p.39-43, 1996.
- [8] MOLNÁR, L.; MOLNÁR, E.; TURY, E.; SOUZA, J.S. Conceções modernas para o diagnóstico da brucelose. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.19, p.157-62, 1997.
- [9] SUTHERLAND, S.S. Immunology of bovine brucellosis. **Vet. Bull.**, v.50, p.359-368, 1980.
- [10] WRIGHT, P.; NIELSEN, K. Current and future serological methods. In: ADAMS, G. **Advances in brucellosis research**. Texas: A&M University Press, College Station, 1990. p.305-319.

Anais da VII Mostra de Docentes em RJI

[11] NIELSEN, K. Diagnosis of brucellosis by serology. **Vet. Microbiol.**, v.90, p.447-459, 2002.

[12] RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. **Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats.** 10.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2007. 2156p.

[13] PAULIN, L.M.S.; FERREIRA NETO, J.S. **O combate à brucelose bovina: situação atual.** Jaboticabal: Editora Funep, 2003. 154p.