

Inquérito soro-epidemiológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semi-árido da Paraíba¹

Inácio J. Clementino^{2*}, Clebert J. Alves², Sérgio S. Azevedo², Lília M. Paulin³ e Kemmuel A. Medeiros²

ABSTRACT. Clementino I.J., Alves C.J., Azevedo S.S., Paulin L.M. & Medeiros K.A. 2007. [Sero-epidemiological survey and risk factors for *Brucella ovis* infection in rams of the semiarid region of Paraíba, northeastern Brazil.] Inquérito soro-epidemiológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semi-árido da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 27(4):137-143. Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Cx.Postal 64, Patos, PB 58700-970, Brazil. E-mail: clementinoij@yahoo.com.br

A sero-epidemiological survey was conducted to determine the prevalence and distribution of *Brucella ovis* infection in rams in the state of Paraíba, northeastern Brazil. The risk factors for the infection were also verified. Serum samples from 498 rams, 8 months of age or older, of 283 sheep herds in the Sertão Paraibano and Borborema mesoregions were investigated. All sera were examined by AGID test (screening test) and CFT (confirmatory test). From the total of examined herds, 8.59% (95% CI = 5.83%-12.48%) were seropositive for *Brucella ovis*. The prevalence of seropositive rams was 5.57% (95% CI = 3.86%-7.97%). The seropositivity was lower in herds where cleanliness was frequently made ($p < 0.05$).

INDEX TERMS: Brucellosis, *Brucella ovis*, rams, prevalence.

RESUMO. Foi realizado um levantamento soro-epidemiológico da brucelose por *Brucella ovis* em reprodutores ovinos deslanados na Paraíba com os objetivos de verificar a prevalência e distribuição da infecção por *B. ovis* em propriedades rurais e analisar os possíveis fatores de risco associados à infecção. Foram investigadas 283 propriedades criadoras de ovinos, das quais foram colhidas 498 amostras de soro sanguíneo de carneiros, a partir de oito meses de idade, nas mesorregiões do Sertão Paraibano e Borborema. Todos os soros foram examinados pela IDGA (teste de triagem) e RFC (teste confirmatório). De acordo com as análises, 8,59% (I.C._{95%} = 5,83%-12,48%) das propriedades apresentaram evidência sorológica de infecção por *B. ovis*, com uma prevalência de 5,57% (I.C._{95%} = 3,86%-7,97%) de reprodutores sororreagentes.

Nas propriedades que higienizavam suas instalações com maior frequência, a soropositividade foi estatisticamente inferior ($p < 0,05$).

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Brucelose, *Brucella ovis*, ovinos, prevalência.

INTRODUÇÃO

A brucelose ovina é uma doença infecciosa crônica dos ovinos causada por *Brucella ovis* e caracterizada por vários graus de epididimite e orquite em carneiros, placentite, aborto e elevada mortalidade de cordeiros (Niilo et al. 1986, Homse et al. 1995, Baigún et al. 2000), tendo sido descrita em praticamente todos os países onde se explora a ovinocultura, e considerada uma das principais causas de perdas reprodutivas desta espécie animal advindas da redução da fertilidade dos rebanhos (Pinochet et al. 1987, Homse et al. 1995).

A prevalência da infecção por *B. ovis* é bastante variável em várias partes do mundo e depende, também, do método e/ou da prova diagnóstica utilizada, variando de 2,4-26% dos carneiros examinados nos trabalhos realizados em outros países (Niilo et al. 1986, Tamayo et al. 1989, Chartier 1992, Robles et al. 1993, Sergeant 1994, Torres et al. 1997).

No Brasil, a doença foi descrita pela primeira vez em 1966

¹ Recebido em 18 de maio de 2006.

Aceito para publicação em 2 de outubro de 2006.

² Depto Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Rodovia Patos-Teixeira Km 0, Jatobá, Cx. Postal 64, Patos, PB 58700-970, Brasil. *Autor para correspondência: clementinoij@yahoo.com.br

³ Instituto Biológico, Rua Conselheiro Rodrigues Alves 1252, São Paulo, SP 04014-002.

no Rio Grande do Sul (Ramos et al. 1966) e, em seguida, vários trabalhos de investigação foram publicados. Magalhães Neto & Gil-Turnes (1996), no Rio Grande do Sul, examinaram os soros de 1.638 ovinos machos pela IDGA e avaliação clínica do trato genital e encontraram anticorpos anti-*Brucella ovis* em 13,4% e manifestações clínicas em 9,8% dos animais. No Estado de Santa Catarina, 18,84% dos animais apresentaram alterações nos órgãos genitais, no entanto, nenhum desses animais reagiu positivamente na IDGA para *B. ovis* (Schäfer et al. 1997). Em São Paulo, Marinho & Mathias (1996) não encontraram animais positivos para *B. ovis* nos testes de IDGA, ELISA e RFC, bem como não observaram alterações sugestivas de infecção por esta bactéria no exame clínico. Recentemente, Azevedo et al. (1999), no Rio Grande do Norte, encontraram 11,3% de ovinos positivos na IDGA. No mesmo Estado, Silva et al. (2003), utilizando a mesma técnica, encontraram 35% de carneiros sororreagentes. No Pernambuco, Coletto et al. (2003) encontraram 17,5% de ovinos reagentes na IDGA.

O diagnóstico da epididimite infecciosa dos carneiros deve basear-se na combinação do exame clínico e sua confirmação pelo isolamento da *B. ovis* do sêmen e/ou resultados positivos nas provas sorológicas (Alton et al. 1988), devendo-se levar em consideração os dados epidemiológicos do rebanho (Estein 1999). O diagnóstico clínico não é suficiente porque somente cerca de 50% dos carneiros infectados com *B. ovis* apresentam epididimite (Baigún et al. 2000). A confirmação do diagnóstico pode ser feita pelo cultivo em meios seletivos para isolamento da bactéria a partir do sêmen de carneiros, descargas vaginais e leite das ovelhas (Bulgin 1990, Grilló et al. 1999, Baigún et al. 2000). No entanto, os métodos indiretos são amplamente utilizados, sendo a imunodifusão em gel de ágar (IDGA), a reação de fixação do complemento (RFC) e o ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) os métodos sorológicos mais utilizados em vários países (Burgess & Norris 1982, Worthington et al. 1984, Vigliocco et al. 1997, Robles 1998).

O Estado da Paraíba tem uma população de 438.430 ovinos dividida da seguinte maneira: 251.312 ovelhas, 21.980 carneiros reprodutores e 129.529 animais com menos de um ano de idade. Todo esse rebanho está distribuído em 20.518 propriedades criadoras, com uma média de 22 animais por propriedade (IBGE 1998). Considerando-se a hipótese de que a infecção por *B. ovis* está presente nos estados nordestinos, inclusive na Paraíba, estruturou-se o presente trabalho com o objetivo de realizar um levantamento soro-epidemiológico da infecção por *B. ovis* em reprodutores ovinos deslançados na Paraíba.

MATERIAL E MÉTODOS

Descrição e caracterização da área de estudo. O Estado da Paraíba é dividido geograficamente em quatro mesorregiões (Sertão Paraibano, Borborema, Agreste Paraibano e Mata Paraibana) e 23 microrregiões. As mesorregiões do Sertão Paraibano e Borborema têm como principal atividade a pecuária extensiva, assumindo destaque a criação de ovinos no Sertão, com 7.087 propriedades criadoras e um total de 159.149 cabeças. Na mesorregião da Borborema, o rebanho principal é de caprinos, animais que resistem melhor às condições ambientais, no entanto, a criação de ovinos vem se destacando, com 6.664 criadores e um rebanho de 190.201

animais (IBGE 1998). Nas mesorregiões do Agreste e Mata Paraibana a pecuária é menos expressiva e a agricultura é bastante diversificada, predominando os pequenos estabelecimentos agropecuários. A ovinocultura é de menor importância quando comparada às das outras mesorregiões, apresentando pouco mais de 6.700 criadores com 92.000 cabeças nas duas mesorregiões (IBGE 1998).

Amostragem. A amostragem foi realizada em dois estágios, dirigida a detectar focos de brucelose por *Brucella ovis*: no primeiro, sorteou-se aleatoriamente um número pré-estabelecido de propriedades (unidades primárias de amostragem) e, no segundo foram selecionadas as unidades secundárias de amostragem, ou seja, os carneiros com idade igual ou superior a 8 meses.

Para definir o número de propriedades a serem amostradas, utilizou-se o programa EpilInfo versão 6.04, tomando-se os seguintes parâmetros: (a) prevalência esperada de 50% (valor adotado para maximizar a amostra); (b) nível de confiança de 95%; e (c) erro absoluto de 10% (Thrusfield 1995). Para as mesorregiões do Sertão Paraibano e da Borborema, que apresentam 7.087 e 6.664 propriedades criadoras de ovinos, respectivamente (IBGE 1998), a amostragem calculada foi de 95 propriedades por mesorregião. Por motivo de segurança, foram visitadas 167 propriedades na mesorregião do Sertão Paraibano e 116 na mesorregião da Borborema.

Apesar do Censo Agropecuário 1995-1996 ter colhido e publicado informações sobre o número de propriedades criadoras de ovinos e ainda apresentado o número de reprodutores ovinos por município (IBGE 1998), não existe um cadastro público de propriedades no Estado da Paraíba. Levando-se em consideração esse fato, para minimizar o vício de amostragem, a seleção das propriedades foi feita com base no cadastro da Emater (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural), SAIA (Secretaria da Agricultura, Irrigação e Abastecimento) e associações de criadores e/ou veterinários particulares. A técnica de amostragem utilizada para o sorteio das propriedades foi a sistemática aleatória (Thrusfield 1995), sendo realizado a partir de uma listagem das propriedades por município em cada mesorregião.

Na visita, quando o produtor não se interessava em fazer parte do estudo ou não tinha reprodutores, procurava-se o criador mais próximo que tivesse interesse pelo trabalho.

Procedimentos de campo. Nas propriedades selecionadas colheu-se o sangue de todos os carneiros utilizados para reprodução com idade igual ou superior a 8 meses, no período de janeiro a agosto de 2004. O sangue foi colhido por venopunção da jugular utilizando-se tubos *vacutainer*. Após a colheita, os tubos foram devidamente identificados, e, após a retração do coágulo, foram colocados em caixas de isopor com gelo e enviados para o Laboratório de Doenças Transmissíveis/CSTR/UFPG, onde foram feitos o dessoramento e o armazenamento a 0°C até o momento do processamento.

Foi aplicado um questionário para obter informações sobre problemas reprodutivos, comercialização de animais, participação em exposições, sistema de criação e manejo dos animais, principal atividade da propriedade e contato com outros animais. Os dados obtidos com os questionários foram utilizados no estudo de fatores de risco.

Provas sorológicas. A imunodifusão em gel de ágar (IDGA) foi a técnica utilizada como prova de triagem e realizada no Laboratório de Doenças Transmissíveis/CSTR/UFPG. Foram utilizados kits produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), sendo a técnica realizada de acordo com as instruções do fabricante, utilizando-se antígeno de lipopolissacarídeos e proteínas de *B. ovis*, amostra Reo 198.

Os soros reagentes na IDGA foram submetidos à reação de fixação do complemento (RFC) para confirmação do resultado. Esta prova

foi realizada no Setor de Doenças Bacterianas da Reprodução - Laboratório de Brucelose Animal do Instituto Biológico de São Paulo, SP. Foi utilizada a microtécnica descrita por Garin-Bastuji & Blasco (1996), utilizando-se como antígeno a *B. ovis*, amostra 63/290.

Prevalência de focos de brucelose ovina por *Brucella ovis*.

Para o cálculo da prevalência de propriedades positivas (focos) nas duas mesorregiões, considerou-se uma amostra aleatória estratificada, sendo cada mesorregião um estrato. Os parâmetros utilizados neste cálculo foram a condição da propriedade (positiva ou negativa), o estrato (mesorregião) ao qual a propriedade pertencia e o peso estatístico. Esse peso foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{Peso} = \frac{n^{\circ} \text{ total de propriedades na mesorregião}}{n^{\circ} \text{ de propriedades amostradas na mesorregião}}$$

Considerou-se, para o cálculo da prevalência de focos por mesorregião, uma amostra aleatória simples, utilizando-se como parâmetros o número de focos e o número de propriedades amostradas na mesorregião. Era considerado foco a propriedade que tinha pelo menos um animal positivo. O programa SPSS for Windows versão 12.0 foi utilizado para a realização de todos os cálculos.

Prevalência de animais soropositivos para a brucelose ovina por *Brucella ovis*. Para o cálculo da prevalência de animais soropositivos para a brucelose ovina por *B. ovis* nas duas mesorregiões, considerou-se uma amostra de *cluster* estratificada. No cálculo da prevalência de animais soropositivos por mesorregião, o desenho amostral considerado foi uma amostragem por *cluster*.

Os parâmetros utilizados para os cálculos foram a condição do animal (positivo ou negativo), a mesorregião à qual o animal pertencia, o número de identificação da propriedade e o peso estatístico de cada animal, que foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{Peso} = \frac{n^{\circ} \text{ de carneiros reprodutores na mesorregião}}{n^{\circ} \text{ de carneiros reprodutores nas propriedades amostradas}} * \frac{n^{\circ} \text{ de carneiros reprodutores na propriedade}}{n^{\circ} \text{ de carneiros reprodutores amostrados nas propriedades}}$$

O programa utilizado para os cálculos das prevalências de animais soropositivos foi o SPSS for Windows versão 12.0.

Identificação de fatores de risco para a brucelose ovina por *Brucella ovis*. Para o estudo de fatores de risco para a brucelose ovina por *B. ovis*, foi realizada uma análise univariada pela estimativa pontual e intervalar da *Odds ratio* (OR). O valor de OR mostra quantas vezes é maior a chance de infecção para os animais expostos a um determinado fator de risco em relação aos não expostos (Thrusfield 1995, Martin et al. 1997). Os cálculos foram feitos com o programa EpiInfo versão 6.04.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados obtidos no presente trabalho, 8,59% (25/283) das propriedades investigadas apresentaram um ou mais carneiros soropositivos para *Brucella ovis* pelo teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA, teste de triagem) e reação de fixação do complemento (RFC, teste confirmatório). No Quadro 1 observa-se que as mesorregiões Sertão Paraibano e Borborema apresentaram 10,18% e 6,90% de propriedades com infecção por *B. ovis*, respectivamente. Não houve diferença estatística significativa entre as mesorregiões ($p = 0,34$).

A prevalência de carneiros soropositivos para *B. ovis* pela

Quadro 1. Prevalência de propriedades com reprodutores ovinos soropositivos para *Brucella ovis* na IDGA (teste de triagem) e RFC (teste confirmatório) nas mesorregiões Sertão Paraibano e Borborema

Mesorregião	Resultados					Total
	Propriedades positivas			Propriedades negativas		
	N	%	IC 95%	N	%	
Sertão Paraibano	17	10,18	6,40 – 15,81	150	89,82	167
Borborema	8	6,9	3,47 – 13,26	108	93,1	116
Total	25	8,59	5,83 – 12,48	258	91,41	283

OR = 1,53 (IC 95% = 0,60 - 4,03), $\chi^2 = 0,92$ ($p = 0,34$).

Quadro 2. Prevalência de reprodutores ovinos soropositivos para *Brucella ovis* na IDGA (teste de triagem) e RFC (teste confirmatório), nas mesorregiões Sertão Paraibano e Borborema

Mesorregião	Resultados					Total
	Reprodutores positivos			Reprodutores negativos		
	N	%	IC 95%	N	%	
Sertão Paraibano	17	6,27	3,93 – 9,88	254	93,73	271
Borborema	11	4,85	2,70 – 8,56	216	95,15	227
Total	28	5,57	3,86 – 7,97	470	94,43	498

OR = 1,31 (IC 95% = 0,57 – 3,07), $\chi^2 = 0,47$ ($p = 0,49$).

Quadro 3. Distribuição das propriedades positivas e negativas segundo as variáveis relacionadas à atividade econômica e respectivos valores de *Odds ratio* (OR), intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e a probabilidade de ocorrência ao acaso (p)

Variável	Propriedades positivas		Propriedades negativas		<i>Odds ratio</i> (IC 95%)	p
	N	%	N	%		
	Finalidade da exploração					
Reprodução	0	0,0	22	100,0	...	
Cria/recria/engorda ^a	5	12,2	69	87,8	...	0,21
Subsistência ^a	13	10,3	113	89,7	...	0,12
Principal atividade						
Ovino-caprinocultura	3	5,5	52	94,5	1	
Bovinocultura	9	17,6	42	82,4	3,71 (0,85-22,4)	0,048
Agricultura	7	6,6	99	93,4	1,23 (0,27-7,64)	0,53
Comercialização de animais						
Sim	13	9,8	120	90,2	1	
Não	12	10,1	107	89,9	1,04 (0,42-2,54)	0,93
Participação em exposições						
Sim	4	9,8	37	90,2	1	
Não	21	10,0	188	90,0	0,97 (0,26-3,22)	0,61

^a OR indefinida.

IDGA e RFC foi de 5,57% (28/498), sendo 6,27% deles no Sertão Paraibano e 4,85% na Borborema (Quadro 2). Não houve diferença estatística entre as mesorregiões ($p = 0,49$).

No Quadro 3 são apresentados os resultados da análise de associação entre os fatores relacionados à atividade econômica das propriedades criadoras de ovinos e a soropositividade para *B. ovis*. De acordo com a análise estatística, a única variável associada com a soropositividade para *B. ovis* foi a principal atividade da propriedade, com as propriedades que tinham a bovinocultura como principal atividade apresentando soropositividade estatisticamente superior (17,6%)

Quadro 4. Distribuição das propriedades positivas e negativas segundo as variáveis relacionadas ao manejo dos animais e respectivos valores de Odds ratio (OR), intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e a probabilidade de ocorrência ao acaso (p)

Variável	Propriedades positivas		Propriedades negativas		Odds ratio (IC 95%)	p
	N	%	N	%		
	Sistema de criação					
Semi-intensivo / intensivo	11	6,7	153	93,3	1	0,1
Extensivo	13	12,6	90	87,4	2,01 (0,80-5,05)	
Contato com outras espécies animais						
Não	5	8,3	55	91,7	1	0,7
Sim	19	10,2	168	89,8	1,04 (0,41-4,01)	
Frequência de higienização das instalações						
Diário/semanal/mensal	0	0,0	39	100,0	...	0,09
Não faz ^a	6	7,2	77	92,8	...	
Semestral ou anual ^a	18	12,2	128	87,5	...	
Situações de aglomeração de animais (vacinação)						
Não	10	9,3	98	90,7	1	0,91
Sim	15	9,7	140	90,3	1,05 (0,42-2,64)	
Situações de aglomeração de animais (vermifugação)						
Não faz	2	5,4	35	94,6	1	0,68
1 vez/ano	6	8,2	67	91,8	1,57 (0,26-16,6)	
2 vezes/ano	11	11,8	82	88,2	2,36 (0,47-22,8)	
3 vezes/ano	4	9,3	39	90,7	1,79 (0,24-20,8)	

^a OR indefinida.

à ovinocaprinocultura (5,5%), com uma OR de 3,71 (0,85-22,4), apesar do IC 95% da OR incluir o valor 1.

No Quadro 4 são apresentados os resultados da associação entre os fatores relacionados ao manejo dos ovinos nas propriedades e a soropositividade para *B. ovis*. Observou-se que nas propriedades onde a higienização era realizada diária/semanal e/ou mensalmente não apresentaram animais soropositivos, contra 7,2% (6/77) e 12,5% (18/126) das propriedades que não higienizavam e o faziam semestral ou anualmente, respectivamente. As propriedades nas quais a higienização era feita semestral ou anualmente apresentaram soropositividade para *B. ovis* estatisticamente maior (p = 0,01) em relação às propriedades onde a higienização era realizada diária/semanal e/ou mensalmente.

Apenas a variável frequência de higienização das instalações foi estatisticamente associada à soropositividade para *B. ovis* (p = 0,04). Os resultados da associação entre as variáveis relacionadas aos animais (raça e idade) e a soropositividade para *B. ovis* são apresentados nos Quadros 5 e 6. De acordo com o Quadro 5, dos 403 animais com informação de raça, 49,5% (199) eram da raça Santa Inês; 6,7% (27) Dorper; 1,2% (cinco) Somalis; 0,5% (dois) Dâmara e 42% (169) não tinham raça definida (SRD). Observou-se ainda que 4,5% (nove) carneiros da raça Santa Inês e 7,1% (12) SRD foram soropositivos para *B. ovis* pela IDGA e RFC. As demais raças não apresentaram carneiros soropositivos. A análise da raça como possível fator de risco associado à infecção por *B. ovis* não foi estatisticamente significativa (p = 0,51).

Com relação à idade, 45,0% (181/402) dos ovinos trabalhados tinham de 8-12 meses de idade; 24,6% (99/402) tinham entre 13 e 24 meses; 13,4% (54/402) entre 25 e 36 meses; e 16,9% (68/402) acima de 36 meses de idade. Quatro (2,2%) dos

Quadro 5. Distribuição de carneiros positivos e negativos para *Brucella ovis* na IDGA (teste de triagem) e RFC (teste confirmatório), segundo as raças e a natureza dos resultados

Raça	Resultados						Total		
	Carneiros positivos			Carneiros negativos			N	%	%
	N	% ^a	(%) ^b	N	%	(%)			
Santa Inês	9	4,5	2,2	190	95,5	47,3	199	100,0	49,5
Dorper	0	0,0	0,0	27	100,0	6,7	27	100,0	6,7
Somalis	0	0,0	0,0	5	100,0	1,2	5	100,0	1,2
SRD	12	7,1	3,0	157	92,9	39,1	169	100,0	42,0
Dâmara	0	0,0	0,0	2	100,0	0,5	2	100,0	0,5
Total	21	5,2	5,2	381	94,8	94,8	402	100,0	100,0

^a % = Porcentagem nas linhas, ^b (%) = porcentagem nas colunas, $\chi^2 = 3,27$ (p = 0,51).

Quadro 6. Distribuição de carneiros positivos e negativos para *Brucella ovis* na IDGA (teste de triagem) e RFC (teste confirmatório), segundo a idade dos animais e a natureza dos resultados

Idade (meses)	Resultados						Total		
	Carneiros positivos			Carneiros negativos			N	%	%
	N	% ^a	(%) ^b	N	%	(%)			
8-12	4	2,2	1	177	97,8	44	181	100	45
13-24	8	8,1	2	91	91,9	22,6	99	100	24,6
25-36	3	5,6	0,7	51	94,4	12,7	54	100	13,4
Mais de 36	6	8,8	1,5	62	91,2	15,4	68	100	16,9
Total	21	5,2	5,2	381	94,8	94,8	402	100	100

^a % = porcentagem nas linhas, ^b (%) = porcentagem nas colunas, $\chi^2 = 6,75$ (p = 0,08).

animais com idade entre 8 e 12 meses de idade; oito (8,1%) dos animais com idade entre 13 e 24 meses; três (5,6%) com idade entre 25 e 36 meses; e seis (8,8%) com idade acima de 36 meses foram soropositivos para *B. ovis* pelos testes sorológicos. Não houve associação entre a faixa etária e a ocorrência de soropositivos para *B. ovis*, como apresentado no Quadro 6.

Das 283 propriedades amostradas, 25 (8,59%) apresentaram evidência sorológica da infecção por *B. ovis* pela IDGA e confirmada pela RFC (Quadro 1). Estas propriedades estavam distribuídas em 29 municípios, sendo 16 na mesorregião do Sertão Paraibano e 13 na Borborema. Dados semelhantes já haviam sido apresentados no primeiro trabalho sobre epididimite ovina publicado no país, onde Ramos et al. (1966) encontraram epididimite clínica em 18,26% das propriedades amostradas. Outros trabalhos realizados no Brasil referem-se à ocorrência de anticorpos contra *B. ovis* em vários rebanhos (Magalhães Neto & Gil-Turnes 1996, Silva et al. 2003), no entanto, não mencionam a porcentagem de rebanhos infectados, e Silva et al. (2003), no Rio Grande do Norte, comentaram que 13 dos 14 municípios investigados apresentaram animais infectados. Já Schäfer et al. (1997) não encontraram soropositividade pela IDGA em 20 propriedades investigadas.

Dos trabalhos realizados em outros países, Niilo et al. (1986), no Canadá, encontraram prevalência de propriedades infectadas por *B. ovis* (8,4%) semelhante à encontrada no presente estudo. Outros autores referem prevalências de propriedades infectadas bem superiores, como 26,9% no Chile (Tamayo et al. 1989); 20,5%

no México (Torres et al. 1997); 28,6% na Argentina (Robles et al. 1993); 32,9% na Austrália (Sergeant 1994); e em 21,9% dos rebanhos da França (Chartier 1992).

A diferença de prevalência de rebanhos afetados por *B. ovis* neste trabalho (8,59%) e no trabalho realizado por Ramos et al. (1966) pode ser explicada pelas técnicas de diagnóstico utilizadas, uma vez que estes autores fizeram apenas avaliação clínica dos reprodutores, técnica sujeita a grandes falhas; pois somente 50% dos carneiros infectados por *B. ovis* apresentam epididimite clínica (Baigún et al. 2000). Além disso, outras bactérias podem causar lesões escrotais, epididimárias e/ou testiculares em carneiros, como *Actinobacillus seminis*, *A. actinomycetemcomitans*, *Haemophilus somnus*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *C. pyogenes*, *Pasteurella* spp., *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. (Walker et al. 1986, Robles et al. 1990, Manterola et al. 2003), o que pode causar confusão no diagnóstico clínico de epididimite por *B. ovis* em carneiros.

No presente trabalho foi encontrada uma prevalência de 5,57% de carneiros soropositivos pela IDGA e confirmados pela RFC (Quadro 2). Resultados diferentes foram observados por Schäfer et al. (1997) e Marinho & Mathias (1996), que não encontraram animais reagentes na IDGA, sendo que estes últimos autores trabalharam com apenas 17,65% (151/850) de animais machos.

Magalhães Neto & Gil-Turnes (1996) observaram uma prevalência de 12,6% pela IDGA em carneiros no Rio Grande do Sul. No Estado de Pernambuco, Coletto et al. (2003) encontraram 16,25% de ovinos de ambos os sexos soropositivos na IDGA. Utilizando a mesma técnica, Silva et al. (2003), no Rio Grande do Norte, encontraram 35% dos carneiros reagentes, sendo que eles trabalharam apenas com 14 carneiros e 256 ovelhas, obtendo uma prevalência geral de 34%. No mesmo Estado e utilizando a mesma técnica, Azevedo et al. (1999) referiram 11,3% de ovinos soropositivos.

Prevalências semelhantes à observada no presente trabalho foram encontradas em outros países: Argentina, México, Índia, Canadá e França (Niilo et al. 1986, Chartier 1992, Robles et al. 1993, Torres et al. 1997). Já Tamayo et al. (1989) e Sergeant (1994) no Chile e na Austrália, respectivamente, encontraram prevalências duas vezes superiores à do presente trabalho.

Quando se analisa a soropositividade para *B. ovis* com relação à finalidade da exploração (Quadro 3), observa-se que as propriedades que tinham como finalidade a criação de animais para reprodução não apresentaram animais soropositivos, o que pode ser explicado pelo uso de alguma tecnificação. Nessas criações há assistência veterinária periódica com avaliação freqüente dos animais e cuidados higiênico-sanitários do rebanho. Os produtores que criavam ovinos para subsistência e cria/recria/engorda apresentaram soropositividade de 10,3% e 12,2%, respectivamente. Apesar de não terem sido encontrados trabalhos na literatura referindo esses aspectos da criação, acredita-se que seria esperada uma maior prevalência de infecção nas propriedades que utilizassem menos controle sanitário do rebanho, como ocorreu nas criações com finalidade de subsistência e cria/recria/engorda dos animais.

As propriedades nas quais a ovino-caprinocultura era a principal atividade (Quadro 3) apresentaram soropositividade estatisticamente menor ($p = 0,048$) que as propriedades que tinham a bovinocultura como principal atividade econômica. Isso pode estar associado ao fato de que nas propriedades em que a ovino-caprinocultura é a principal atividade, os cuidados com o rebanho são maiores. Além disso, os ovinos e caprinos são geralmente criados nas mesmas instalações, e a infecção por *B. ovis* só ocorre naturalmente em ovinos, sendo os caprinos pouco susceptíveis a esta bactéria, com uma infecção de curta duração e sendo desconhecido se a infecção é transmitida do ovino ao caprino em condições de campo (Burgess et al. 1985, Estein 1999). As soropositividades nas propriedades com as atividades principais de bovinocultura e agricultura foram de 17,6% e 6,6%, respectivamente, o que pode ser justificado pelo fato desses produtores terem cuidados menores ou inadequados com a criação de ovinos, que é considerada uma atividade à parte na propriedade.

A maior soropositividade entre as propriedades que comercializavam os ovinos com freqüência é um fato esperado, dada a maior possibilidade de introdução de animais infectados nesses rebanhos, no entanto, isso não foi confirmado no presente trabalho (Quadro 3). Na região semi-árida da Paraíba, os produtores costumam adquirir tanto reprodutores como matrizes e animais solteiros e introduzi-los nos seus rebanhos sem realizar qualquer avaliação da sanidade destes animais, e após algum tempo, comercializam novamente estes animais. Isso pode se tornar uma rota importante para a introdução da *B. ovis* nos rebanhos da região.

Esperava-se que a soropositividade para *B. ovis* fosse maior nas propriedades cujos animais participavam de exposições (Quadro 3), o que não foi confirmado no presente trabalho, apesar de terem sido encontrados animais soropositivos em 57,14% (4/7) das exposições visitadas na Paraíba, onde 10% dos 50 expositores investigados apresentaram animais soropositivos. Nas exposições é comum a colocação de muitos animais no mesmo curral e até a troca/comercialização de animais pelos expositores, o que possibilita o contato entre animais de expositores diferentes e, com certa freqüência, observa-se comportamento homossexual entre estes animais. Isso representa um fator de risco importante para a disseminação de *B. ovis*, uma vez que esta é uma importante via de transmissão da doença, e a única quando o rebanho é composto apenas por machos (Burgess et al. 1985, Bulgin 1990). No entanto, não houve diferença significativa na soropositividade de animais para esta bactéria ($p = 0,61$) entre os produtores que participavam ou não de exposições. Outro fato que deve ser levado em consideração na análise desta situação é a ocorrência de carneiros com títulos sorológicos persistentes apesar de terem eliminado a infecção do seu organismo (Plant et al. 1986), bem como a intermitência na eliminação da bactéria pelo sêmen (Worthington et al. 1985, Paolicchi et al. 1993).

Com relação ao sistema de criação (Quadro 4), não foi verificada diferença significativa ($p = 0,1$) entre os animais criados de forma extensiva e os criados de forma intensiva/semi-intensiva, apesar da *Odds ratio* mostrar que os animais

do sistema extensivo tinham duas vezes mais risco de contrair a infecção do que os animais criados nos outros dois sistemas. Tamayo et al. (1989), no Chile, apresentaram dados diferentes, em que a infecção entre os animais criados em sistema intensivo e intermediário foi superior à observada em animais criados de forma extensiva. Essa baixa soropositividade nos rebanhos criados de forma intensiva/semi-intensiva pode estar associada ao tamanho das explorações, uma vez que o número médio de animais por rebanho trabalhado foi de 40 cabeças. Desse modo, fica mais fácil a identificação e a eliminação de reprodutores com lesões escrotais por parte dos produtores, uma vez que o número de reprodutores por rebanho é pequeno, diferentemente do que ocorre nos grandes rebanhos criados extensivamente.

Não houve associação entre o contato dos ovinos com outras espécies animais e a soropositividade para *B. ovis* ($p > 0,05$), como apresentado no Quadro 4. Isso pode ser explicado pelo fato da maioria dos animais que tinham contato com os ovinos serem domésticos, como caprinos, bovinos, cães, aves, eqüídeos e suínos, e na literatura foram encontrados trabalhos relacionados apenas com infecção experimental de caprinos, desconhecendo-se a ocorrência de transmissão natural da bactéria entre os ovinos e caprinos (Burgess et al. 1985, Estein 1999). Entretanto, com relação a ruminantes silvestres, Ridler et al. (2000) confirmaram que *B. ovis* pode ser transmitida de carneiros infectados para cervos no mesmo pasto e entre cervos (West et al. 1999). Apesar de não ter havido associação entre o contato com outras espécies animais e a infecção por *B. ovis* neste trabalho, pode ser que haja a possibilidade de algum dos animais mencionados participar da epidemiologia da doença, seja por meio da eliminação da *B. ovis* pelo sêmen ou por atuarem como carreadores mecânicos da mesma, como pode ocorrer com os cães ao ingerirem fetos ou membranas fetais provenientes de abortamentos.

Não houve associação ($p > 0,05$) entre a soropositividade para *B. ovis* e as situações de manejo das propriedades em que ocorrem aglomerações dos animais, como as representadas pelas épocas de vacinações e vermifugações (Quadro 4). Condições de manejo que favorecem a aglomeração dos animais podem contribuir para a disseminação de doenças infecto-contagiosas no rebanho, quando um ou mais animais infectados estão presentes no rebanho (Radostits et al. 2002).

Outro fator relacionado ao manejo dos animais nas propriedades que pode contribuir para a diminuição da ocorrência de doenças infecciosas e parasitárias é a higienização das instalações (Radostits et al. 2002), uma vez que esta é uma medida básica recomendada para auxiliar no controle de uma série de doenças. Avaliando-se a frequência de higienização das instalações e sua relação com a soropositividade para *B. ovis* (Quadro 4), observou-se que as propriedades que higienizavam suas instalações diária, mensal e/ou semanalmente não apresentaram soropositividade para esta bactéria, ao passo que as que não faziam higienização apresentaram soropositividade de 7,2%, sendo ligeiramente inferior às das que limpavam suas instalações uma ou duas vezes ao ano (12,5%). Isso pode estar diretamente associado à finalidade da exploração, uma vez que as propriedades com criação de

animais para reprodução não apresentaram animais soropositivos. Nestas propriedades, como os animais têm elevados valores genético e econômico, os cuidados com o manejo sanitário são constantes. A higienização e a limpeza das instalações são importantes na prevenção da disseminação da doença devido ao fato das ovelhas infectadas eliminarem a *B. ovis* junto com as secreções vaginais, a placenta e o feto abortado (Libal & Kirkbride 1983, Homse et al. 1995, Estein 1999, Grilló et al. 1999), e como as mucosas oral e nasal e a pele ferida são portas de entrada do agente (Plant et al. 1986, Alton et al. 1988, Bulgin et al. 1990), esses materiais, permanecendo nas instalações, podem contribuir para a disseminação da infecção nos rebanhos.

Não foi verificada diferença estatística ($p > 0,05$) entre a soropositividade para *B. ovis* e as raças estudadas (Quadro 5), fato que pode estar relacionado ao pequeno número de reprodutores de algumas raças presentes na região. Silva et al. (2003), trabalhando com as mesmas raças, referiram que apenas a raça Morada Nova não apresentou soropositividade, no entanto, eles não fizeram avaliação estatística dos dados, talvez pelo fato de terem trabalhado com apenas 34 animais machos e a amostragem por raças também ter sido pequena. Ramos et al. (1966), no primeiro levantamento sobre epididimite ovina no Brasil, verificaram que a raça Romney Marsh apresentou a maior soropositividade. Magalhães Neto & Gil-Turnes (1996) encontraram maior soropositividade na raça Sulffolk, seguida de Romney Marsh. Sergeant (1994), na Austrália, verificou que a raça Dorset apresentou maior soropositividade, seguida da raça Border Leicester. São escassos os estudos sobre a epididimite em ovinos deslançados no Nordeste do Brasil. No presente trabalho, 4,5% dos ovinos Santa Inês foram soropositivos. Outros autores já haviam relatado soropositividade de ovinos deslançados no Rio Grande do Norte (Silva et al. 2003).

Com relação à idade, 45% dos reprodutores trabalhados tinham de 8-12 meses de idade, o que demonstra uma alta taxa de substituição de reprodutores por parte dos criadores da região, chegando a ponto de utilizarem animais que ainda não atingiram sua completa maturidade reprodutiva. A análise da idade como fator de risco associado à infecção por *B. ovis* (Quadro 6) não mostrou diferença estatística entre as faixas etárias investigadas ($p = 0,08$), concordando com os achados de Sergeant (1994) e diferindo dos achados de Magalhães Neto & Gil-Turnes (1996), Baigún et al. (2000) e Silva et al. (2003), que encontraram maiores prevalências em adultos. Resultados diferentes também foram encontrados por Tamayo et al. (1989), em que os animais de menos de um ano de idade foram soronegativos e a maior frequência (9,1%) foi observada em animais de quatro anos de idade. Apesar de não ter havido diferença estatística entre as faixas etárias no presente trabalho, os animais de até um ano de idade apresentaram baixa positividade (2,2%), sendo superior à observada por Tamayo et al. (1989) para a mesma faixa etária. Com relação às outras faixas etárias, os resultados obtidos concordam com os de Tamayo et al. (1989), que referiram uma maior soropositividade nos animais acima de três anos de idade. Vários autores comentam que os cordeiros podem se infectar pelo leite de ovelhas

lhas infectadas (Baigún et al. 2000, Marco et al. 1994), o que pode explicar a ocorrência, no presente trabalho, de animais soropositivos com até um ano de idade, mesmo com a alta taxa de substituição de reprodutores nas propriedades.

Agradecimentos.- À Coordenação de Apoio ao Pessoal de Ensino Superior (CAPES)/MEC, pela bolsa de pesquisa concedida.

REFERÊNCIAS

- Alton G.G., Jones L.M., Angus R.D. & Verger J.M. 1988. Techniques for the brucellosis laboratory. INRA, Paris. 109p.
- Azevedo S.S., Alves C.J., Andrade J.S.L. & Santos F.A. 1999. Prevalência de ovinos reagentes à prova de imunodifusão em gel para *Brucella ovis* na microrregião do Seridó do Rio Grande do Norte. Anais 4º Congr. Pernambucano Med.Veterinária, Recife, p.269-270.
- Baigún R., Conigliaro A.S. & Luna F. 2000. Aislamiento de *Brucella ovis* y control de reaccionantes serológicos en epididimitis ovina. Vet. Argent. 17(162):103-107.
- Bulgín M.S. 1990. *Brucella ovis* epizootic in virgin ram lambs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 196(7):1120-1122.
- Burgess G.W. & Norris M.J. 1982. Evaluation of the cold complement fixation test for diagnosis of ovine brucellosis. Aust.Vet. J. 59:23-25.
- Burgess G.W., Spencer T.L. & Norris M.J. 1985. Experimental infection of goats with *Brucella ovis*. Aust. Vet. J. 62(8):262-264.
- Chartier C. 1992. Ovine brucellosis in Ivory Coast: a serological survey. Bull. Anim. Hlth Prod. Afr. 40:213-214.
- Coletto Z.F., Pinheiro Júnior J.W. & Mota R.A. 2003. Ocorrência de infecção por *Brucella ovis* em ovinos do Estado de e sua participação em distúrbios reprodutivos nesta espécie (estudos preliminares). Revta Bras. Reprod. Anim. 27(3):551-553.
- Estein S.M. 1999. Aspectos inmunológicos en el diagnóstico y control de la Epididimitis contagiosa del carnero por *Brucella ovis*. Arch. Med. Vet. 31(1):5-17.
- Garin-Bastuji G. & Blasco J.M. 1996. Ovine epididymitis (*Brucella ovis*). Manual of standards for diagnostic tests and vaccines (OIE), p.343-349.
- Grilló M.J., Marín C.M., Barberán M. & Blasco J.M. 1999. Experimental *Brucella ovis* infection in pregnant ewes. Vet. Rec. 144:555-558.
- Homse A.C., Casaro A.P. & Campero C.M. 1995. Infertilidad em ovelhas por *Brucella ovis*. Vet. Argent. 12(114):243-249.
- IBGE 1998. Censo Agropecuário 1995-1996, no.11 - Paraíba. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Ministério do Planejamento e Orçamento, Rio de Janeiro, p.1-231.
- Libal M.C. & Kirkbride C.A. 1983. *Brucella ovis*-induced abortion in ewes. J. Am. Vet. Med. Assoc. 183(5):553-554.
- Magalhães Neto A. & Gil-Turnes C. 1996. Brucelose ovina no Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras. 16(2/3):75-79.
- Manterola L., Tejero-Garcés A., Ficapal A., Shopayeva G., Blasco J.M., Marín C.M. & López-Goñi J. 2003. Evaluation of a PCR test for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in semen samples from rams. Vet. Microbiol. 92(1/2):65-72.
- Marco J., González L., Cuervo L.A., Heredia E.B., Barberán M., Marín C. & Blasco J.M. 1994. *Brucella ovis* infection in two flocks of sheep. Vet. Rec. 135:254-256.
- Marinho M. & Mathias L.A. 1996. Pesquisa de anticorpos contra *Brucella ovis* em ovinos do estado de São Paulo. Pesq. Vet. Bras. 16(2/3):45-48.
- Martin S.W., Meek A.H. & Willeberg P. 1997. Epidemiología Veterinaria: principios y métodos. Acribia, Zaragoza. 384p.
- Niilo L., Macdonald D.W., Godkin G.F. & Stone M.W. 1986. Ovine brucellosis in Alberta. Can. Vet. J. 27:245-249.
- Paolicchi F.A., Terzolo H.R. & Campero C.M. 1993. Isolation *Brucella suis* from the semen of a ram. Vet. Rec. 132:67.
- Pinochet V.L., Pinto A.A., Sánchez M.L. & Bertolino R.M. 1987. Brucelosis ovina: vacunacion com cepa 45/20 adyante. Av. Cienc. Vet. 2(1):47-50.
- Plant J.W., Eamens G.J. & Seaman J.T. 1986. Serological, bacteriological and pathological changes in rams following different routes of exposure to *Brucella ovis*. Aust. Vet. J. 63(12):409-412.
- Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C. & Hinchcliff K.W. 2002. Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1737p.
- Ramos A.A., Mies Filho A., Schenck J.A.P., Vasconcelos L.D., Prado O.T.G., Fernandes J.C.T. & Blobel H. 1966. Epididimite ovina: levantamento clínico no Rio Grande do Sul. Pesq. Agropec. Bras. 1:211-213.
- Ridler A.L., West D.M., Stafford K.J., Wilson P.R. & Fenwick S.G. 2000. Transmission of *Brucella ovis* from rams to red deer stags. N. Z. Vet. J. 48:57-59.
- Robles C.A. 1998. Evaluacion de una tecnica de doble difusion en gel de agar para el diagnostico de la infeccion por *Brucella ovis* en carneros. Vet. Argent. 14(142):119-125.
- Robles C.A., La Torraca A., Sancholuz M., Uzal F.A. & Evans E. 1993. Brucelosis ovina en majadas merino de la provincia de Chubut, Argentina. Vet. Argent 10(97):458-461.
- Robles C.A., Urcullú J., Uzal F.A. & Merlo R. 1990. Primer diagnostico en Patagonia de orquiepididimitis en carneros por bacilos pleomorficos gram negativos. Vet. Argent. 7(67):453-455.
- Schäfer I., Vaz A., Ramella J. & Coutinho G. 1997. Prevalência de carneiros reagentes à prova de imunodifusão em gel para *Brucella ovis* no Município de Lages, SC. Hora Vet., Porto Alegre, 17(99):60-61.
- Sergeant E.S.G. 1994. Seroprevalence of *Brucella ovis* infection in commercial ram flocks in the Tamworth area. N. Z. Vet. J. 42:97-100.
- Silva J.B.A., Feijó F.M.C., Teixeira M.F.S. & Silva J.S. 2003. Prevalência de brucelose ovina causada por *Brucella ovis* em rebanhos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. Ciênc. Anim., Fortaleza, 13(1):51-54.
- Tamayo R., Valentin H. & Schoebitz R. 1989. Determinación de anticuerpos a *Brucella ovis* en ovinos de la X Región de Chile. Arch. Med. Vet. 21(1):22-28.
- Thrusfield M. 1995. Veterinary Epidemiology. 2nd ed. Blackwell Science, Cambridge. 479p.
- Torres E.D.N., Aparicio E.D., Quezada F.V., Tavera F.T. & Güemes F.S. 1997. Presencia de anticuerpos contra diferentes especies de *Brucella* en sementales ovinos jóvenes. Vet. Mex. 28(3):241-245.
- Vigliocco A.M., Paulo P.S.S., Mestre J., Briones G.C., Draghi G., Tossi M. & Nielsen K. 1997. Development and validation of an indirect enzyme immunoassay for detection of ovine antibody to *Brucella ovis*. Vet. Microbiol. 54:357-368.
- Walker R.L., Lea Master 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. 188:393-396.
- West D.M., Stafford K.J., Sargison N.D., Fenwick S.G. & Reichel M.P. 1999. Attempted transmission of *Brucella ovis* between stags and from stags to rams. Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod. 59:134-136.
- Worthington R.W., Stevenson B.J. & Lisle G.W. 1985. Serology and semen culture for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in chronically infected rams. N. Z. Vet. J. 33:84-86.
- Worthington R.W., Weddell W. & Penrose M.E. 1984. A comparison of three serological tests for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. N. Z. Vet. J. 32:58-60.