



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

RENATA STEFANY BITENCOURT CAVALCANTE

**OCORRÊNCIA DE *Brucella abortus* EM TRABALHADORES DE FRIGORÍFICOS
NO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS - MA**

São Luís

2016

RENATA STEFANY BITENCOURT CAVALCANTE

**OCORRÊNCIA DE *Brucella abortus* EM TRABALHADORES DE FRIGORÍFICOS
NO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS - MA**

Monografia apresentada ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) como requisito parcial para obtenção de título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientadora: Profª. DSc. Nancyleni Pinto Chaves

São Luís
2016

Cavalcante, Renata Stefany Bitencourt

Ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no município de São Luís – MA/ Renata Stefany Bitencourt Cavalcante. - São Luís, 2016.

90 f

Monografia (Graduação)- Curso de medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, 2016.

Orientador: Profa. Nancyleni Pinto Chaves.

1.*Brucella abortus*.2.Trabalhadores.3.Frigorificos.I Titulo

CDU: 616.98:579.84(812.1)

RENATA STEFANY BITENCOURT CAVALCANTE

**OCORRÊNCIA DE *Brucella abortus* EM TRABALHADORES DE FRIGORÍFICOS
NO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS - MA**

Monografia apresentada ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. DSc. Nancyleni Pinto Chaves

Orientadora - Universidade Estadual do Maranhão
1º Examinador

Prof^ª.MSc. Larrissa Sarmento dos Santos

Universidade Estadual do Maranhão
2º Examinador

Prof^ª.DCs. Joicy Cortez de Sá

Centro Universitário do Maranhão-CEUMA
3º Examinador

Dedico este trabalho aos meus pais, José Ribamar Sousa Cavalcante e Rivanda Cristina Dias Bitencourt, por sempre acreditarem em meu desempenho, aos meus irmãos Italo Vinícius Dias Cavalcante e Matheus Angelo Bitencourt Cavalcante e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado saúde, força e sabedoria para superar todas as dificuldades ao longo destes cinco anos, que apesar dos contratempos permitiu que esse momento pudesse acontecer.

Aos meus pais José Ribamar Sousa Cavalcante e Rivanda Cristina Dias Bitencourt por sempre acreditarem em mim, sempre me incentivando e dando apoio em tudo que precisasse, pelo carinho e atenção e por sempre me educarem com princípios éticos para seguir durante toda minha vida, por me ensinarem a batalhar e a lutar pelos meus sonhos.

Aos meus irmãos Italo Vinícius Dias Cavalcante e Matheus Angelo Bitencourt Cavalcante, pois apesar das desavenças e algumas brigas sempre estiveram presentes e me ajudaram sempre que precisei.

À minha Orientadora Nancyleni Pinto Chaves pela enorme paciência, dedicação, profissionalismo, didática, sabedoria, doçura que encanta a todos e humildade apesar das suas grandes conquistas profissionais e pessoais e suas experiências que muito me auxiliou para conclusão deste Trabalho de Conclusão de Curso, és um grande exemplo de profissional e pessoa que eu quero me espelhar na minha carreira.

As minhas amigas Thays Andrade Gomes, Amanda da Silva Sousa, Tassia Aires Mendes da Silva, Thaliane França Costa, Valéria Raiana Fonseca, Dryane Aguiar e a todos os amigos da turma 76 do curso de Medicina Veterinária.

À todos os colaboradores envolvidos na execução deste trabalho: colegas Thaliane França Costa e Luis Gustavo, Sr. Raimundinho, Sr. Marion, Priscila Alencar, Hilmanara Tavares, Tielle Luz.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA) pelo suporte financeiro para a realização desse trabalho.

À Universidade Estadual do Maranhão e ao Curso de Medicina Veterinária por me incentivar e ajudar na busca de conhecimentos.

*“O SENHOR é o meu pastor, nada me faltará.
Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me mansamente a águas tranquilas.
Refrigera a minha alma; guia-me pelas veredas da justiça, por amor do seu nome.
Ainda que eu andasse pelo vale da sombra da morte, não temeria mal algum, porque tu estás
comigo; a tua vara e o teu cajado me consolam.
Preparas uma mesa perante mim na presença dos meus inimigos, unges a minha cabeça com
óleo, o meu cálice transborda.
Certamente que a bondade e a misericórdia me seguirão todos os dias da minha vida; e
habitarei na casa do Senhor por longos dias.”*

(Salmos 23:1-6)

RESUMO

A brucelose é uma enfermidade infectocontagiosa de caráter crônico, causada por bactérias do gênero *Brucella*, que acomete o homem e diferentes espécies de animais. A doença pode ser transmitida pelo contato direto ou indireto com animais infectados e anexos fetais e, ainda, veiculada ao homem pela ingestão de produtos de origem animal contaminados ou através da manipulação de carcaças e vísceras durante o abate. O risco de transmissão de agentes infecciosos, em frigoríficos, além de importante para a saúde ocupacional individual, tem grande relevância para a saúde pública, pois os trabalhadores desses locais são os primeiros hospedeiros a serem expostos aos agentes etiológicos de zoonoses. Nesse contexto, o objetivo do estudo foi determinar a ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no Município de São Luís – MA. Para isso, foram selecionados 75 funcionários ligados diretamente a atividade de abate de bovinos. A coleta das amostras de sangue foi realizada pela punção da veia cefálica, conduzida por um profissional da saúde. Após a coleta, cada trabalhador respondeu a um questionário epidemiológico para estudar possíveis fatores de risco associados à brucelose nesses profissionais. O diagnóstico sorológico para detecção de anticorpos anti-*Brucella abortus* foi realizado pelo Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), como teste de triagem, e as amostras reagentes nesse, foram submetidas simultaneamente ao 2-Mercaptoetanol e Soroaglutinação lenta em Tubos. Apenas um trabalhador (1,34%) foi reagente para *B. abortus* no estudo. Dentre os fatores de risco avaliados, nenhum apresentou significância estatística ($P < 0,05$) associada à brucelose. Desta forma, pode-se concluir que a ocorrência de *B. abortus* em trabalhadores de frigoríficos municipais no Município de São Luís – MA foi baixa. Contudo, como a brucelose é endêmica em rebanhos bovinos no Estado do Maranhão e diante da dinâmica do trabalho executado nesses locais é grande a possibilidade desses profissionais se infectarem, sobretudo, pela não utilização de EPI's.

Palavras-chave: Brucelose, frigoríficos, trabalhadores, zoonoses.

ABSTRACT

Brucellosis is an infectious disease of chronic nature, caused by bacteria of the genus *Brucella*, which affects humans and different animal species. The disease can be transmitted by direct or indirect contact with infected animals and fetal membranes and also conveyed to humans by eating contaminated animal products or by. It can be conveyed well by handling carcasses and offal during slaughter. The risk of transmission of infectious agents in refrigerators, as well as important for the individual occupational health, has great relevance to public health because the workers of these sites are the first hosts to be exposed to the etiologic agents of zoonoses. In this context, the objective of the study was to determine the occurrence of *Brucella abortus* in meatpacking workers in São Luis - MA. For this, we selected 75 employees linked directly to cattle slaughtering activity. The collection of blood samples was performed by puncturing the cephalic vein, conducted by a health professional. After collection, each worker answered an epidemiological questionnaire to study possible risk factors associated with brucellosis in these professionals. Serological diagnosis to detect anti-*Brucella abortus* antibodies was performed by antigen buffered plate (AAT), as a screening test, reagents and samples that were subjected simultaneously to the 2-Mercaptoethanol and slow agglutination test tubes. Only one worker (1.34%) was positive for *B. abortus* in the study. Among the risk factors evaluated, no statistically significant ($P < 0.05$) associated with brucellosis. Thus, it can be concluded that the occurrence of *B. abortus* in municipal slaughterhouses workers in São Luís - MA was low. However, as brucellosis is endemic in cattle herds in the state of Maranhão and on labor dynamics run these places is great possibility of these professionals become infected mainly by non-use of PPE.

Key-words: Brucellosis, slaughterhouse, workers, zoonosis.

LISTA DE TABELAS

Figura 1.	Fatores de risco associados à brucelose em trabalhadores de frigoríficos municipais no Município de São Luís – MA.....	74
------------------	--	----

SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	11
1.1	Referências.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Produção da Indústria Frigorífica no Brasil.....	17
2.2	Setor Industrial da Carne Bovina.....	18
2.3	Boas Práticas de Fabricação.....	18
2.4	Educação em Saúde no Contexto da Prevenção de Zoonoses.....	19
2.5	Brucelose.....	20
2.5.1	<i>Etiologia.....</i>	<i>21</i>
2.5.2	<i>Resistência do Gênero Brucella.....</i>	<i>22</i>
2.5.3	<i>Epidemiologia.....</i>	<i>23</i>
2.5.4	<i>Notificações da Brucelose Bovina no Mundo.....</i>	<i>25</i>
2.5.5	<i>Perdas Econômicas.....</i>	<i>26</i>
2.5.6	<i>Doença Ocupacional.....</i>	<i>26</i>
2.5.7	<i>Transmissão.....</i>	<i>27</i>
2.5.8	<i>Patogenia e Sinais Clínicos em Animais.....</i>	<i>30</i>
2.5.9	<i>Sinais Clínicos em Humanos.....</i>	<i>33</i>
2.5.10	<i>Diagnóstico em Animais.....</i>	<i>34</i>
2.5.11	<i>Diagnóstico Laboratorial Específicos para Humanos.....</i>	<i>38</i>
2.5.12	<i>Diagnóstico da Doença em Humanos.....</i>	<i>39</i>
2.5.13	<i>Vacinação.....</i>	<i>39</i>
2.5.14	<i>Tratamento em Humanos.....</i>	<i>41</i>
2.5.14.1	<i>Pessoas Expostas a Brucelose.....</i>	<i>42</i>
2.5.14.2	<i>Exposição á Cepa Vacinal (acidente ocupacional).....</i>	<i>42</i>
2.5.14.3	<i>Prevenção e Controle da doença em Animais</i>	<i>43</i>
2.5.14.4	<i>Prevenção e Controle da Brucelose em Humanos.....</i>	<i>44</i>
2.5.14.5	<i>Dados Brasileiros.....</i>	<i>46</i>
2.5.15	<i>Vigilância Epidemiológica.....</i>	<i>46</i>
2.5.16	<i>Definição de Caso.....</i>	<i>47</i>
2.6	Referências.....	48
3	ARTIGO CIENTÍFICO.....	61
	INTRODUÇÃO.....	64
	MATERIAL E MÉTODOS.....	65
	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
	CONCLUSÃO.....	69
	AGRADECIMENTOS.....	70
	REFERÊNCIAS.....	70
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75
5	APÊNDICES.....	77
6	ANEXO.....	82

CAPÍTULO 1: Considerações Iniciais

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Zoonoses são enfermidades transmissíveis, comuns aos homens e aos animais e se apresentam em dois grupos onde, no primeiro grupo, os animais desempenham papel essencial na presença da infecção na natureza, ficando o homem como um hospedeiro acidental. No segundo grupo, tanto os animais como o homem adquirem a infecção a partir das mesmas fontes de contaminação, como solo, água, animais invertebrados e plantas, no entanto, animais não desempenham um papel essencial no ciclo de vida do agente etiológico, mas, podem contribuir em graus variados para a distribuição e transmissão real de infecções (ACHA; SZYFRES, 2001).

Agente zoonótico pode ser bactéria, vírus, fungo ou outro agente de doença transmissível. Estimativas indicam que 61% de todos os patógenos humanos são zoonóticos, e representaram 75% de todos os patógenos emergentes relatados na última década (WHO, 2012a).

Existem mais de 200 tipos de zoonoses que são transmissíveis ao homem, no entanto, ainda há muitas dificuldades com relação à identificação das infecções, que podem ser confundidas com outras doenças, e das vias de contaminação, assim como o registro e subnotificação de casos positivos (WHO, 2012b).

Algumas zoonoses apresentam-se como doenças ocupacionais, despertando nos profissionais grande preocupação por estarem, por diversas vezes, expostos ao risco de adquiri-las. Entre os profissionais mais suscetíveis a esses riscos, estão os médicos veterinários, proprietários e tratadores de animais, magarefes e funcionários de frigoríficos, que constantemente se expõem ao contato direto ou indireto com animais e/ou suas secreções, sendo os frigoríficos, os pontos mais críticos, onde essa exposição é mais constante ainda (DIAS, 2012).

O Ministério do Trabalho e Emprego (MTE, 2004) relata que os processos de produção utilizados nas empresas de abate e processamento de carnes são organizados de tal maneira que as atividades desenvolvidas apresentam potencial risco à saúde e à segurança dos trabalhadores. A análise da rotina de trabalho, nestes estabelecimentos, demonstra a complexidade dos riscos (químico, acidentes, ergonômico, físico e biológico) a que estão sujeitos tais profissionais durante a jornada de trabalho, em todas as etapas do fluxograma de abate, desde a recepção dos animais até a expedição dos produtos. Devido ao contato direto e por longo período com sangue, carnes, vísceras, fluidos e secreções de animais

potencialmente contaminados, são evidentes os riscos biológicos que envolvem a contaminação do trabalhador por agentes zoonóticos em frigoríficos (MARRA et al., 2013).

Os agentes etiológicos das doenças zoonóticas ocupacionais são exemplos de riscos biológicos classificados em quatro tipos, segundo as classes de risco, tendo como base vários critérios, dos quais destacam-se: (i) a gravidade da infecção que causa; (ii) a virulência; (iii) a patogenicidade; (iv) a dose infectante; (v) o modo de transmissão; (vi) a estabilidade do agente; (vii) a concentração e o volume; (viii) a origem do material patogênico; (ix) a disponibilidade de medidas profiláticas e de tratamento eficaz; (x) a resistência a drogas; (xi) a endemicidade; (xii) e, a capacidade de disseminação no meio ambiente (DEUTZ et al., 2005). A importância dessa classificação está centrada nos aspectos relacionados à determinação de medidas a serem tomadas para a contenção e o controle dos riscos relacionados (CDC, 2009). A classe 1 é a de menor risco e a classe 4 a de maior (MARRA et al., 2013).

Os agentes da classe 4 representam sério risco para o homem e os animais, provocam doenças fatais, além de apresentarem elevado potencial de transmissão por aerossóis. Até o momento não há medidas profiláticas ou terapêuticas eficazes para infecções adquiridas. O Vírus Crimean-Congo Hemorrhagic fever é um representante dessa classe. Os de classe 3, provocam infecções graves no homem e nos animais, podendo propagar-se de indivíduo para indivíduo por meio de aerossóis, pelas vias respiratórias, *Brucella*, *Coxiella burnetii*, Vírus Nipah e *Mycobacterium bovis* são integrantes dessa classe. Os agentes da classe de risco 2 podem provocar infecções no homem ou nos animais, porém possui potencial de propagação limitado e dispõe-se de medidas terapêuticas e profiláticas eficientes. São exemplos de agentes etiológicos dessa classe, a *Leptospira interrogans*, *Toxoplasma gondii*, *Streptococcus*, *Campylobacter*, Vírus hepatite E, *Salmonella*, *Taenia solium*, Vírus hepatite B, *Trichophyton verrucosum*, *Trichinella*, *Cryptosporidium*, Príon causador da doença de Creutzfeldt-Jakob, *Babesia* e *Toxocara* (MARRA et al., 2013).

Trabalhos publicados, focados no conhecimento que a população em geral possui sobre zoonoses, revelam o desconhecimento sobre as doenças ocupacionais, principalmente no que diz respeito a medidas básicas de prevenção, como higiene ambiental e corporal (DIAS, 2012). Nessa perspectiva, analisar os riscos dos trabalhadores nos frigoríficos, para melhor compreender a inter-relação entre o trabalho, o processo saúde/doença do trabalhador e os fatores que o determinam, exigem a participação do estudo dos agentes zoonóticos como propositora de conhecimentos e formuladora de ações preventivas.

Diante dos aspectos supracitados, dos problemas relacionados as doenças ocupacionais, com ênfase nos agentes zoonóticos e da importância desta para a saúde individual e pública é que se faz necessário a realização de pesquisas nessa área.

Para o desenvolvimento deste trabalho, inicialmente foram feitas observações sobre a importância dos animais de produção para o Estado do Maranhão e da escassez de dados sobre as ocorrências de zoonoses em trabalhadores de frigoríficos municipais no Município de São Luís que, fundamentadas teoricamente por pesquisadores que trabalham a temática, originaram alguns questionamentos e, a partir dos mesmos realizou-se este Trabalho de Conclusão de Curso - TCC.

Com este TCC pretende-se atingir os seguintes objetivos: (I) Determinar a ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no Município de São Luís – MA; (II) Identificar possíveis fatores de risco associados à *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no Município de São Luís - MA; (III) Fornecer dados que proporcionem às empresas informações sobre agentes zoonóticos ocupacionais em trabalhadores de frigoríficos no Município de São Luís – MA, colaborando com a saúde ocupacional e pública; (IV) Incentivar mudanças de comportamento, permitindo que os conhecimentos adquiridos sejam colocados em prática na rotina dos trabalhadores de frigoríficos no Município de São Luís – MA.

Esse TCC se estrutura em quatro capítulos, onde o primeiro capítulo é referente às considerações iniciais. No segundo capítulo encontra-se a fundamentação teórica desse trabalho que trata da problemática das doenças ocupacionais no ambiente de trabalho, com ênfase em frigoríficos. No terceiro capítulo é apresentado um artigo, resultado desta pesquisa, intitulado “Ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no Município de São Luís – MA”, de acordo com as normas da Revista do Instituto Adolfo Lutz (Anexo 1). Já no quarto capítulo são apresentadas as considerações finais deste trabalho.

1.1 Referências

ACHA, P. N.; SZYFRES B. **Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales**. Organización Panamericana de la Salud, 2001, v. 1, 398 p.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **Biosafety in microbiological and biomedical laboratories**. Atlanta: CDC; 2009.

DIAS, I. C. L. Prevenção de zoonoses ocupacionais em abatedouros de bovinos. **Revista Vivências**, São Luís, vol.8, n.15: p.89-98, Outubro/2012.

DEUTZ, A.; FUCHS, K.; AUER, H.; KERBL, U.; ASPOCK, H.; KOFER, J. **Toxocara-infestations in Austria: a study on the risk of infection of farmers, slaughterhouse staff, hunters and veterinarians**. Parasitol Research, 2005.

MARRA, G. C.; SOUZA, L. H. de; CARDOSO, T. A. de O. **Biossegurança no trabalho em frigoríficos: da margem do lucro à margem da segurança**. Ciência saúde coletiva, vol.18, n.11, Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-81232013001100016&script=sci_arttext>. Acesso em: 17 set. de 2015.

MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO. Departamento de Segurança e Saúde no Trabalho. **Nota Técnica: Medidas para Controle de Riscos Ocupacionais na Indústria de Abate e Processamento de Carnes**. Brasília: MTE, 2004. 27p.

WHO – World Health Organization. **Zoonoses and veterinary public health: The control of neglected zoonotic diseases**. 2012a Disponível em: <http://www.who.int/zoonoses/control_neglected_zoonoses/en/>. Acesso em: 11 mai. 2016.

WHO – World Health Organization. **Zoonoses and veterinary public health: Diseases**. 2012b Disponível em: < <http://www.who.int/zoonoses/diseases/en/>>. Acesso em: 11 mai. 2016.

CAPÍTULO 2: Revisão de Literatura

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção da Indústria Frigorífica no Brasil

A indústria frigorífica e o complexo de carnes fazem hoje do Brasil um dos principais exportadores mundiais de produtos de origem animal. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2010 foram abatidos 29.265 milhões de bovinos, representando aumento de 4,3% em relação ao ano anterior. O Brasil registrou nesse mesmo ano exportações recorde no setor agropecuário com 76,4 bilhões de dólares em comparação ao ano de 2009 (64,7 bilhões de dólares), cujo valor é 18% maior e supera em 4,6 bilhões de dólares os 71,8 bilhões de dólares registrados em 2008, até então o melhor ano para as vendas externas do agronegócio, segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 2011c).

Os maiores exportadores de carne bovina do Brasil são os Estados de São Paulo, Mato Grosso, Goiás, Mato Grosso do Sul e Rondônia, com 34,6%, 15,2%, 13,5%, 9,7% e 6,9% da participação no total embarcado, respectivamente (BRASIL, 2013).

Entre os principais destinos da carne brasileira, estão Hong-Kong, Rússia, Venezuela e Egito. No ano de 2014, Hong-Kong apresentou-se em primeiro lugar como comprador de nossa carne, sendo responsável por 25,4% do volume exportado e 23,7% da receita. Em segundo lugar a Rússia com 20,4% do volume e 18,4% da receita exportada. A Venezuela aparece em terceiro lugar, com números bastante inferiores aos dois primeiros colocados, 11,0% do volume exportado e 12,6% da receita (BRASIL, 2015).

Entre os sete primeiros colocados nos últimos dois anos analisados, somente a Índia o Brasil, Argentina e Austrália apresentaram crescimento no rebanho. Os outros países apresentaram decréscimo, devido a problemas climáticos (principalmente a seca), econômicos e conjunturais (BRASIL, 2013). O abate de 831,40 mil cabeças de bovinos a menos no 4º trimestre de 2015, em relação a igual período do ano anterior, foi impulsionado por reduções no abate em 22 das 27 Unidades da Federação. As principais quedas ocorreram em Mato Grosso (-252,59 mil cabeças), Mato Grosso do Sul (-144,76 mil cabeças), Minas Gerais (-110,67 mil cabeças), São Paulo (-79,81 mil cabeças), Pará (-78,04 mil cabeças), Goiás (-51,39 mil cabeças), Bahia (-27,28 mil cabeças), e Paraná (-25,01 mil cabeças). Parte dessas quedas foi compensada por aumentos nas outras cinco Unidades Federativas (UFs), com destaque ao Maranhão (+11,22 mil cabeças) e ao Rio Grande do Norte (+3,30 mil cabeças). No ranking

das UF's, Mato Grosso continua a liderar amplamente o abate de bovinos, seguido por Mato Grosso do Sul e São Paulo (IBGE, 2015).

2.2 Setor Industrial da Carne Bovina

O setor industrial da carne bovina brasileira está passando por algumas dificuldades devido a atual conjuntura da atividade, a baixa oferta de animais terminados, aliada a crise econômica que atinge o país, a diminuição da procura da carne bovina pelos consumidores e a queda nas exportações, tem dificultado a manutenção das unidades frigoríficas. O preço da carne bovina já subiu mais de 18% no último ano e com isto os consumidores passam a buscar alternativas de proteína animal como ovos e carne de frango. A falta de oferta de animais também vem sendo um problema enfrentado pelo setor industrial, a já citada migração da pecuária para o Norte do país e o avanço de áreas agrícolas sobre as pastagens, tem limitado o crescimento do setor pecuário, juntamente a anterior baixa rentabilidade da pecuária de corte, o que levou muitos pecuaristas a substituírem suas atividades por culturas agrícolas mais rentáveis, fator que têm ocasionado à redução da oferta de bezerros e consequentemente de animais terminados. A crise do setor industrial e a diminuição do número de frigoríficos são extremamente danosas para todos os elos que compõe a cadeia da carne, não somente prejudica a indústria da carne em si, mas outros setores que dependem dela como: a indústria de processamento da graxaria, curtumes entre outras (BRASIL, 2015).

2.3 Boas Práticas de Fabricação

No setor de alimentos para consumo humano, o termo Boas Práticas de Fabricação (BPF) refere-se a um conjunto de ações necessárias para garantir as condições higienicossanitárias do alimento preparado. Estas ações se aplicam aos serviços de alimentação que manipulam, preparam, fracionam, armazenam, distribuem, transportam, expõem a venda e entregam alimentos preparados ao consumo (CORRIJO et al., 2010).

O Ministério da Saúde (MS) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no intuito de melhorar as condições higienicossanitárias na preparação de alimentos e adequar às ações de Vigilância Sanitária publicaram a Portaria nº 1.428 de 1993

(BRASIL, 1993) e as Resoluções nº 326 de 1997 e nº 216 de 2004 (BRASIL, 1997; BRASIL, 2004) as quais regulamentam e definem as condições técnicas que devem ser seguidas no que se refere às BPF de alimentos crus e pronto para consumo e a elaboração do Manual de Boas Práticas, que descreve de forma concisa todos os procedimentos técnicos e específicos para cada estabelecimento (SILVA JÚNIOR, 2005).

As BPF abordam as seguintes ações: edificações e instalações, higiene do local, equipamentos e utensílios e suas condições higienicossanitárias, controle de pragas, abastecimento de água e sua qualidade, manejo de resíduos, higiene pessoal dos manipuladores e suas condições de saúde, qualidade das matérias-primas, ingredientes e embalagens adquiridas e sua manipulação, e por fim, o armazenamento, transporte e exposição ao consumo do alimento preparado (BRASIL, 2004).

Segundo Nascimento Neto (2005), a implantação de BPF em unidades produtoras de alimentos eleva a qualidade dos produtos, garante a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos, reduz riscos dando maior segurança e satisfação aos consumidores, bem como possibilita um ambiente de trabalho mais eficiente e satisfatório, otimizando todo o processo produtivo e minimizando custos.

2.4 Educação em Saúde no Contexto da Prevenção de Zoonoses

No contexto das doenças dos animais naturalmente transmissíveis ao homem, a questão da segurança do trabalhador deve passar, primeiramente, por ações educativas e de prevenção, que representam as bases fundamentais da educação em saúde (DIAS, 2012).

A educação em saúde é um processo ativo e contínuo, que promove mudanças no conhecimento, atitudes e comportamento das pessoas frente aos problemas sanitários, com o objetivo de melhorar as condições diretas e indiretas da saúde das pessoas. A 12^a Assembleia Mundial da Saúde reafirmou o conceito de que a educação em saúde abrange a soma de todas aquelas experiências que modificam ou exercem influência nas atitudes ou condutas de um indivíduo com respeito à saúde, e dos processos expostos necessários para alcançar estas modificações (BRASIL, 1996).

Segundo Dias (2012), uma das tarefas mais importantes da promoção da saúde é o fortalecimento de atores sociais. Este contexto educacional não pode basear-se em preconceitos, pois, o trabalhador possui conhecimentos prévios que devem ser considerados e trabalhados, objetivando o diálogo e a transformação da realidade. Portanto, sensibilizar de

forma crítica e participativa é o fator mais importante para se estabelecer um verdadeiro trabalho educativo e conseguir resultados práticos, em termos de saúde.

Os veterinários possuem papel importante na educação em saúde, pois, ocupam uma posição estratégica na indústria de carnes, que lhes permite entender a cultura de segurança e as atitudes dos trabalhadores (TAVOLARO et al., 2007).

Os veterinários, além de atuarem no controle sanitário das operações e na promoção de melhorias técnicas para o funcionamento adequado dos frigoríficos, deveriam participar ativamente, também, das estratégias de promoção de saúde dos trabalhadores, com a finalidade principal de contribuir para melhor qualidade de vida no trabalho e, conseqüentemente, diminuir os custos sociais e individuais da produção de carnes com qualidade assegurada. A formação profissional dos veterinários, por outro lado, historicamente não contempla temas relacionados à prática educacional, constituindo obstáculo para projetos de educação para trabalhadores que prestam serviços na área veterinária (TAVOLARO; OLIVEIRA, 2006).

De modo geral, os veterinários não são capacitados formalmente a lidar com essa tarefa especializada. Essa capacitação dos veterinários deveria ser incluída no currículo dos cursos de graduação em medicina veterinária, contemplando os valores da profissão (TAVOLARO et al., 2007).

É possível que os veterinários enfrentem muitos obstáculos nesse processo, porém, tais dificuldades não podem constituir justificativas para o abandono do importante papel social a eles atribuído no exercício de suas atividades, particularmente em abatedouros (DIAS, 2012).

2.5 Brucelose

A brucelose bovina é uma enfermidade de importância socioeconômica que causa vultuosos prejuízos à exploração pecuária devido à queda na produção de leite e de carne decorrente de abortamentos, nascimentos de bezerros prematuros e esterilidade. Trata-se de uma zoonose que acarreta problemas para a saúde pública e pode incapacitar o homem, parcial ou totalmente, para o trabalho (BRASIL, 2006).

A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) classifica a brucelose como enfermidade transmissível, importante do ponto de vista socioeconômico e sanitário em nível

nacional e com significativa repercussão no comércio internacional de animais e de seus produtos (OIE, 2006).

A doença apresenta distribuição universal, sendo que alguns países da Europa e América do Norte erradicaram a doença e passaram a impor restrições ao comércio internacional de animais vivos e seus produtos (CAMPANA et al., 2002).

No Brasil, a exemplo do que ocorre em outros países que tem problemas com a doença, o MAPA publicou em 11 de janeiro de 2001 o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT). O programa prevê o diagnóstico dessas enfermidades e, para isso, estabelece os testes oficiais a serem utilizados em todo o território nacional (BRASIL, 2006).

2.5.1 Etiologia

As bactérias do gênero *Brucella* pertencem à classe Proteobacteria, são Gram-negativas, intracelulares facultativas, imóveis e não esporuladas. Apresentam-se na forma de bastonetes curtos que medem de 0,6 a 1,5 µm por 0,5 a 0,7 µm de dimensão (VELASCO et al., 2000; REDKAR et al., 2001; PROBERT et al., 2004).

São considerados micro-organismos aeróbios, porém uma atmosfera com tensão de 5 a 10% de CO₂ favorece o isolamento de algumas espécies. Apresentam temperatura de multiplicação na faixa de 20 a 40°C, sendo 37°C a temperatura ideal, e um pH ótimo de 6,6 a 7,4 (PAJUABA, 2006; OIE, 2009).

Dentro deste gênero são descritas dez espécies independentes, classificadas principalmente por diferenças de patogenicidade, preferência de hospedeiro, características bioquímicas e antigênicas. As espécies de *Brucella* e seus biovars são diferenciadas por meio de testes como a sorotipagem, tipificação de fagos, requerimentos de CO₂, sensibilidade a corantes, produção de H₂S, além das propriedades metabólicas (ALTON et al., 1988; PAJUABA, 2006; OIE, 2009).

As principais espécies do gênero são a *B. melitensis* (isoladas em cabras, ovelhas e camelos), *B. abortus* (bovinos e bubalinos), *B. suis* (suínos e javalis), *B. neotomae* (ratos do deserto), *B. ovis* (ovelhas) e *B. canis* (cães), as quais são subdivididas em sete biovars ou biotipos para *B. abortus* (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 9), três para *B. melitensis* (1, 2 e 3) e cinco para *B. suis* (1, 2, 3, 4 e 5) (MORENO et al., 2002; FOSTER et al., 2007; SCHOLZ et al., 2008).

As outras espécies como *B. ceti* e *B. pinnipedialis*, isoladas em mamíferos marinhos (focas, leões marinhos, golfinhos e baleias) e *B. microti* (procedente de ratazanas selvagens) não foram diferenciadas em biovars, apesar de existirem variantes dentro das cepas (CLOECKAERT et al., 2001; SCHOLZ et al., 2008).

Classicamente, as bactérias do gênero *Brucella* podem ser divididas em dois grupos antígenicamente distintos, denominados lisas ou rugosas, com base nas características de multiplicação em meios de cultura no cultivo primário e na constituição química da parede celular - presença ou ausência da cadeia O - um dos componentes do lipopolissacárideo (LPS) localizado na superfície externa da *Brucella spp* e que possui relação com a virulência de algumas espécies (NIELSEN et al. 2004; CARDOSO et al., 2006).

As colônias lisas possuem como constituinte do LPS, o lipídeo A, o núcleo oligossacárideo e a cadeia O. Já as rugosas, possuem como constituinte da membrana externa apenas o lipídeo A e o núcleo oligossacarídeo (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; LAGE et al., 2008).

As espécies *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* e *B. neotomae* normalmente apresentam morfologia de colônia lisa e quando sofrem mutações para formas rugosas ou mucóides, deixam de ser patogênicas. Já as espécies *B. canis* e *B. ovis* apresentam morfologia de colônia predominantemente do tipo rugosa (ALTON et al., 1988; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; MINHARRO, 2009; OIE, 2009).

2.5.2 Resistência do Gênero *Brucella*

A *Brucella spp* apresenta-se exigente quanto à multiplicação *in vitro*, porém possui uma ampla capacidade de sobrevivência em ambientes que apresentam condições de umidade, abrigo de luz solar direta, pH neutro, temperatura e matéria orgânica, podendo resistir em pastagens, fetos abortados, anexos fetais e fezes úmidas por longos períodos (CARVALHO et al., 1995; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; BRASIL, 2006; OIE, 2009).

Todas as espécies do gênero são sensíveis ao calor e à acidez, e quando submetidas à ação de desinfetantes comuns, como soluções de formaldeídos a 2%, produtos clorados (2,5% de cloro ativo), compostos fenólicos a 2,5% e permanganato de potássio (1:5000), a eliminação de *Brucella spp* ocorre em, no máximo, 15 minutos. O álcool a 70%

destrói imediatamente as bactérias enquanto o carbonato de cálcio (1:10) as elimina em 30 minutos (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; LAGE et al., 2008; OIE, 2009).

A sobrevivência de *Brucella* spp no leite e produtos lácteos depende da temperatura, pH e da presença de outros micro-organismos que possam inibir a multiplicação, podendo permanecer no alimento de 15 a 90 dias. A refrigeração inibe a multiplicação, porém a viabilidade é mantida mesmo em temperatura de congelamento. No entanto, a fervura, processos de pasteurização e os métodos de esterilização são eficazes na eliminação do microrganismo (CARVALHO et al., 1995; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; , 2006).

Em carnes, a *Brucella* spp pode manter-se viável durante meses, sendo pouco afetada pela acidificação muscular, refrigeração ou congelamento. Além do calor, a eliminação do agente só ocorre em situações de pH inferior a 4 (PESSEGUEIRO et al., 2003).

Os casos de brucelose por ingestão de carne ou derivados são raros, visto o número reduzido de bactérias no músculo e o raro consumo de carne crua. Já o consumo de sangue e medula óssea pode ser considerado veículo de transmissão da doença. A sobrevivência da *Brucella* spp em carnes depende do grau de contaminação no início do processo e do tipo de tratamento tecnológico empregado. Essas bactérias podem persistir nas células do sistema monocítico fagocitário, nas secreções uterinas, na glândula mamária e na medula óssea. Por isso, o descarte dos tecidos que concentram um grande número de bactérias pode diminuir ou até mesmo evitar a contaminação de carcaças e vísceras durante o abate (CARVALHO et al., 1995; PESSEGUEIRO et al., 2003; PARDI et al., 2006).

2.5.3 Epidemiologia

A brucelose encontra-se mundialmente distribuída, sendo considerada uma das principais zoonoses. Embora tenha sido erradicada em diversos países da região norte e central da Europa, Austrália, Japão e Nova Zelândia, continua re-emergente e se apresentando como um grave problema sanitário e econômico, principalmente em países da América do Sul, África, Oriente Médio e Ásia (CORBEL, 1997; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; OIE, 2009).

No Brasil, a brucelose é endêmica, porém apresenta dados bastante diferenciados face à dimensão territorial e às características próprias de cada região (POESTER et al., 2002; RIBEIRO et al., 2008; LAGE et al., 2008).

De acordo com o estudo epidemiológico nacional realizado em 1975, a brucelose bovina encontrava-se disseminada por todo o território brasileiro. As prevalências estimadas por regiões foram: Norte, 4,1%; Nordeste, 2,5%; Centro-Oeste, 6,8%; Sudeste, 7,5% e Sul, 4%. Posteriormente, outros inquéritos sorológicos, por amostragem, foram realizados por alguns estados, porém não foram evidenciadas grandes alterações em relação aos índices verificados em 1975. Os dados de notificações oficiais no período de 1988 a 1998 indicaram que a prevalência de animais soropositivos se manteve entre 4% e 5% (POESTER et al., 2002; BRASIL, 2006).

Em 2001, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2001) instituiu o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT), que consiste em um conjunto de medidas sanitárias estratégicas em busca da redução da prevalência e incidência da brucelose, implementando a vacinação compulsória de bezerras com idade entre três e oito meses, em todo o país. Dentre outras atividades previstas no programa destacam-se a adesão voluntária dos criadores na busca de rebanhos livres e monitorados, a prática de testes sorológicos regulares em rebanhos de elite para a participação em feiras e exposições e o sacrifício dos animais positivos para brucelose (BRASIL, 2006).

Após a implementação do PNCEBT, foram realizados inquéritos soro epidemiológicos no período de 2001 a 2004 em 13 unidades federativas (BA, DF, ES, GO, MG, MT, PR, RJ, RS, SC, SE, SP e TO) a fim de conhecer a situação epidemiológica da doença no início do programa de controle, baseando-se na frequência e distribuição da enfermidade na população. Os resultados revelaram que a brucelose encontra-se disseminada nas diversas áreas estudadas e a situação encontra-se heterogênea entre os diversos estados brasileiros e, até mesmo, entre regiões de um mesmo estado. Evidenciou-se também uma tendência de aumento da prevalência da brucelose no sentido Centro-Oeste/Norte do país, principalmente nos estados tradicionais produtores de carne (POESTER et al., 2009b).

No Brasil, não existem dados epidemiológicos acerca da brucelose humana, e como o país abriga a maior população comercial de bovinos do mundo, este fator é presumivelmente um risco para o aumento da prevalência da doença humana causada por *B. abortus* (PAPPAS, 2006).

De acordo com Mendes e Marcondes-Machado (2005), a prevalência real da brucelose é desconhecida, pois são poucos os laboratórios da rede pública que disponibilizam os meios diagnósticos e por não se tratar de doença de notificação obrigatória.

Com relação à incidência da brucelose humana no Brasil, o número é grandemente subestimado devido ao quadro clínico da doença ser extremamente variável, por não ser declarada às autoridades sanitárias e por ser diagnosticada erroneamente por médicos. A verdadeira incidência pode ser estimada em 10 a 25 vezes maior que o relatado (NIMRI, 2003).

2.5.4 Notificações da Brucelose Bovina no Mundo

A grande parte das notificações de infecção e doença clínica pela brucelose bovina é observada no Oriente Médio, na região Mediterrânea, na África sub- Sahariana, na América Latina e em zonas de alguns países como a China e a Índia (WAHID, 2011).

Os países ou zonas consideradas livres da doença concentram-se mais em áreas de maior desenvolvimento socioeconômico, como no norte da América e da Europa e em países do leste asiático e Oceania, como Japão, Austrália e Nova Zelândia (OIE, 2009).

Para isto, segundo o Código de Sanidade dos Animais Terrestres (OIE, 2011), é preciso que a população bovina do país ou zona esteja sob controle veterinário oficial e que seja constatada por meio de testes periódicos dos animais e um bom sistema de vigilância uma taxa de infecção que não exceda 0,2 % dos rebanhos, além de nenhum animal ter sido vacinado contra a brucelose bovina pelo menos nos últimos três anos.

A brucelose tem um impacto importante no mundo inteiro sobre a saúde humana e a indústria animal. Na maioria dos países, a brucelose é uma doença de notificação obrigatória (PAHO, 2000).

De acordo com a Portaria do Ministério da Saúde nº 104, de 25 de janeiro de 2011, os surtos de brucelose, assim como os surtos de outras doenças de veiculação hídrica e alimentar, são enquadrados como eventos de potencial relevância em saúde pública quando haja alteração no padrão epidemiológico da doença (BRASIL, 2011a).

Dessa forma, no Brasil, quanto à notificação, não é obrigatória quando ocorrem casos isolados, mas na vigência de surtos, deve ser notificada, realizada a investigação epidemiológica e adotadas as medidas de controle indicadas (BRASIL, 2010a).

No entanto, no Estado do Tocantins (2010), há determinação para que todos os casos suspeitos de brucelose humana sejam notificados, conforme o Protocolo de Direcionamento para suspeita clínica, diagnóstico, tratamento e acompanhamento dos Casos de Brucelose Humana. Este documento objetiva orientar os profissionais da rede estadual de

atenção do SUS e das áreas técnicas de vigilância estadual para o manejo dos casos em sua área de abrangência.

2.5.5 Perdas Econômicas

No Brasil, não existem estudos sistematizados que comprovem taxativamente os prejuízos econômicos ocasionados pela brucelose bovina ou bubalina. Contudo, considera-se que as perdas diretas são decorrentes dos abortamentos e período de esterilidade temporária, responsáveis pelas quedas nas taxas de natalidade, aumento do intervalo entre partos, nascimentos de bezerros prematuros e baixa da produção de leite (CAMPAÑA et al., 2002; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

Estimativas mostram que a brucelose é responsável pela diminuição de 25% na produção de leite e de carne e por redução de 15% na produção de bezerros. Mostram ainda que a cada cinco vacas infectadas, uma aborta ou torna-se permanentemente estéril (BRASIL, 2006).

2.5.6 Doença Ocupacional

Em saúde ocupacional, a brucelose tem lugar de destaque por afetar grupos profissionais da área de pecuária, que lidam com animais, principalmente os de produção leiteira. Pode acometer, ainda, os funcionários que participam diretamente do abate de animais e que estão expostos ao sangue, carcaças e vísceras. Enfrentam o mesmo risco os médicos veterinários, quando do exercício das atividades de assistência às criações ou da inspeção sanitária de produtos de origem animal nos abatedouros (GERMANO; GERMANO, 2003). A doença faz parte da lista de doenças infecciosas e parasitárias relacionadas com o trabalho sendo classificada no Grupo I do Código Internacional de Doenças - CID 10 (BRASIL, 1999).

2.5.7 Transmissão

Os principais fatores para a transmissão da doença entre rebanhos bovinos são: (i) movimentação de animais de rebanhos infectados para rebanhos livres, uma vez que o risco de introdução de animais infectados tende a aumentar com o aumento de movimentações, assim como, a partir de compras realizadas diretamente de outras propriedades ou comerciantes de gado; (ii) proximidade com rebanhos infectados; e (iii) presença de áreas onde exista acúmulo de água (CHRISTIE, 1969; KELLAR; MARRA; MARTIN, 1976; NICOLETTI, 1980; SALMAN; MEYER, 1984; CRAWFORD; HUBER; ADAMS, 1990).

Os fatores que influenciam a transmissão da brucelose dentro de rebanhos correspondem (i) ao nível de vacinação do rebanho (valores entre 65 a 80% de animais vacinados são considerados satisfatórios para uma redução significativa no número de reagentes); (ii) tamanho do rebanho (rebanhos maiores apresentam maior movimentação de animais e problemas sanitários quando comparados com rebanhos de menor tamanho, assim como, torna-se mais difícil identificar e isolar animais positivos); (iii) densidade populacional (áreas com maior densidade tendem a permitir um maior número de contatos entre os animais, aumentando as chances de interações complexas entre a população em risco); (iv) práticas de manejo intensivas, como a inseminação artificial; e (v) ausência de piquetes de parição (KELLAR; MARRA; MARTIN, 1976; NICOLETTI, 1980; SALMAN; MEYER, 1984; CRAWFORD; HUBER; ADAMS, 1990).

Após o contato do agente infeccioso e um hospedeiro suscetível (mais comumente bovinos sexualmente maduros), principalmente através das mucosas oral ou nasal, as brucelas multiplicam-se no sítio de entrada e, fagocitadas no interior de macrófagos, disseminam-se por via hematogênica ou linfática para diferentes órgãos, como baço, fígado e linfonodos (ricos em células do sistema mononuclear fagocitário) (ACHA; SZYFRES, 2001). O fato de a bactéria sobreviver por longos períodos dentro de macrófagos permite que a mesma não sofra a ação de anticorpos específicos e do sistema de complemento, favorecendo a ocorrência de infecção aguda e crônica (ACHA; SZYFRES, 2001; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

O bovino infectado é a principal fonte de disseminação da brucelose nos rebanhos. Os bubalinos assumem maior importância epidemiológica quando são criados junto com os bovinos. O objetivo principal de um programa de erradicação é a eliminação da doença em ambas as espécies (CAVALLÉRO et al, 2002).

A principal fonte de infecção, nos casos de transmissão bovino a bovino, é representada pela vaca prenhe, que elimina grandes quantidades do agente por ocasião do

abortamento ou parto e durante todo o período puerperal, contaminando pastagens, água, alimentos e fômites (BRASIL, 2006).

Várias espécies domésticas ou silvestres são suscetíveis à infecção por *B. abortus*, porém são, quase sempre, consideradas como hospedeiros finais da infecção, pois não transmitem ao bovino novamente. Neste caso, destacam-se os equinos, ovinos, caprinos, cães, animais silvestres, animais domésticos que vivem em condições silvestres, conhecidos como baguás e saprófagos (TIMONEY et al., 1988; CHENGAPPA, 1991; BRASIL, 2006).

Embora os equinos possam infectar-se por *Brucella abortus*, não existe caso comprovado de transmissão da bactéria dessa espécie animal para o bovino. Porém há um risco potencial de infecção para o homem, pois a patogenicidade do agente não diminui após sua passagem pelo equino. O risco de infecção é ainda maior quando há a eliminação de grandes quantidades de bactérias por fístulas supuradas (CAVALLÉRO et al., 2002). A importância de espécies silvestres como reservatórios na epidemiologia da brucelose já foi constatada em alguns países, entre eles os EUA, Canadá, Inglaterra e também na África (PAULIN e FERREIRA NETO, 2003).

No Brasil, o papel que essas espécies representam na manutenção e disseminação da enfermidade ainda é desconhecido. De acordo com Cavalléro et al. (2002), não há vetores nem reservatórios silvestres de importância. Ito et al. (1998) relatam que animais domésticos que vivem em condições silvestres e capivaras podem transmitir a enfermidade. Animais como queixada, já foram identificados como sororreagentes para brucelose. Catetos também podem contaminar-se pela ingestão de produtos abortados de vacas. Os animais saprófagos também apresentam importância para a epidemiologia da brucelose pela possibilidade de carregarem o agente, levando restos de placenta ou fetos de um lugar para o outro (BRASIL, 2006).

As principais vias de eliminação são fetos abortados, membranas fetais e bezerros recém-nascidos acometidos pela doença. Esses materiais biológicos contaminam pastos, cochos com alimentos e aguadas, que atuam como meios de transmissão (CAVALLÉRO et al., 2002).

Leite, sêmen e fezes também servem como via de eliminação, sendo que a eliminação pelas fezes se dá no caso de bezerros que ingerem o leite contaminado, por até dois meses do desmame, embora nessa idade não sejam suscetíveis (ACHA; SZYFRES, 1986).

As portas de entrada mais importantes para a *Brucella* spp são a via digestiva e a penetração pelas mucosas do trato genital ou nasal, conjuntiva ocular ou pela pele, que é

facilitada na presença de lesões, muitas vezes imperceptíveis. Nos bovinos, a via de entrada mais frequente do agente é a oral, em decorrência do hábito das vacas lambem os bezerros recém-nascidos (infectados), os fetos abortados, as placentas e seus líquidos, as descargas vaginais, que contém grande quantidade de brucelas. Além disso, essas excreções contaminam fômites, pastagens, forragens, água, através dos quais os bovinos podem se infectar. A via digestiva também é responsável quando um bovino suscetível é infectado por meio de fezes de bezerros que tenham se alimentado de leite contaminado (ACHA; SZYFRES, 1986; BISHOP et al., 1994).

A fêmea pode adquirir a doença apenas por cheirar fetos abortados, pois a bactéria também pode penetrar pelas mucosas do nariz e dos olhos (BRASIL, 2006).

Touros empregados em cobertura natural não assumem papel importante na disseminação da doença, uma vez que o sêmen é depositado no interior da vagina, onde as condições determinadas pelo pH não são propícias para a infecção. A presença de touros positivos apenas indica que o rebanho está infectado. Entretanto, a doença pode ser transmitida por inseminação artificial, quando o sêmen do touro infectado é depositado no interior do útero (CAMPOS et al., 2003).

A transferência de embriões é considerada uma prática segura que não permite a transmissão da infecção, pois, não há penetração da bactéria no embrião e as sucessivas lavagens às quais o embrião é submetido eliminam o agente (CAVALLÉRO et al., 2002).

A brucelose ocorre de preferência em bovinos sexualmente maduros. Porém bezerros nascidos de mães reagentes são, na maioria das vezes, sorologicamente positivos de quatro a seis meses, devido aos anticorpos presentes no colostro, mais tarde tornando-se negativos, mesmo que a infecção, em estado latente, esteja presente em uma pequena proporção desses animais. Bezerras que sofrem a infecção *in útero* podem permanecer no estado de infecção latente, com a bactéria persistindo em seus pulmões e linfonodos regionais, apresentando-se sorologicamente negativas, ou com títulos sorológicos instáveis, até o primeiro parto, soro convertendo-se a partir da metade de sua primeira gestação, podendo, inclusive, eliminar o agente etiológico. Essas infecções latentes nos animais sorologicamente negativos têm grande importância porque passam despercebidas e podem servir como fonte de infecção algum tempo depois. Nesses casos a vacinação é ineficaz (RAY et al., 1988; CAVALLÉRO et al., 2002; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; FICHT, 2003; BRASIL, 2006).

A pasteurização do leite levou a redução da transmissão da brucelose ao homem. Entretanto, a brucelose zoonótica também é considerada uma doença ocupacional que pode

acometer assistentes agropecuários, veterinários, tratadores, vaqueiros, laboratoristas e magarefes. São trabalhadores cujo contato direto com descargas uterinas, produtos de aborto ou carcaças de animais doentes, além de acidentes de laboratório, aumentam o risco de infecção. O manuseio da vacina B19, que é patogênica para o homem, também põe em risco algumas classes de profissionais. Quanto à vacina RB51, não há informação suficiente para avaliar a sua patogenicidade para humanos, e não há descrição de acidentes. É recomendável que se manuseie a vacina RB51 com os mesmos cuidados da estirpe B19 (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

2.5.8 Patogenia e Sinais Clínicos em Animais

A patogenicidade das bactérias do gênero *Brucella* está intimamente relacionada com os mecanismos que permitem sua invasão, sobrevivência e multiplicação intracelular nas células do hospedeiro, mantendo-as protegidas da ação do sistema imune (ARÉSTEGUI et al. 2001; NIELSEN et al., 2004; XAVIER et al., 2009).

A infecção natural se inicia principalmente pelas mucosas oral, nasofaríngea, conjuntival ou por solução de continuidade da pele, sendo que a porta de entrada principal da *B. abortus* em bovinos é a mucosa orofaríngea (BISHOP et al., 1994; GORVEL & MORENO, 2002; CAMPANÃ et al., 2003; RIBEIRO et al., 2008).

Após a penetração na mucosa, as bactérias são fagocitadas principalmente por macrófagos, sendo carregadas até os linfonodos regionais, onde se multiplicam e podem permanecer por semanas a meses, levando à hiperplasia e linfadenite (BISHOP et al., 1994; LAGE et al., 2008; NETA et al., 2009).

A partir dos linfonodos regionais, os microrganismos podem disseminar livremente ou no interior de macrófagos, pela via hemática e linfática albergando-se em outros linfonodos, principalmente os supramamários, e em órgãos como baço, fígado e outros tecidos ricos em células mononucleares fagocitárias, podendo sobreviver nestes locais por longos períodos, escapando da resposta imune (HARMON et al., 1988; GORVET & MORENO, 2002; CAMPANÃ et al., 2003; LAGE et al., 2008; LIRA, 2008; MATRONE et al., 2009; XAVIER et al., 2009).

O mecanismo de permanência da *Brucella spp* no interior de células de defesa está relacionado à síntese de enzimas antioxidantes e à produção de guanosina 5' monofosfato-GMP e adenina que atuam inibindo a fusão do lisossomo com o fagossomo

impedindo assim a degranulação dos macrófagos durante a fagocitose e, conseqüentemente, a destruição do agente (ARESTÉGUI et al., 2001; BALDWIN; PARENT, 2002; NETA et al., 2009).

Durante a fase de multiplicação celular, estas bactérias podem provocar alterações inflamatórias e anatomopatológicas caracterizadas por granulomas difusos, levando à hiperplasia linfóide, esplenomegalia e até hepatomegalia (BISHOP et al., 1994; LAGE et al., 2008; CAMPOS et al., 2009; MATRONE et al., 2009).

De acordo com Corrêa e Corrêa (1992), os órgãos e tecidos invadidos por microrganismos do gênero *Brucella* podem apresentar uma aparência normal ou áreas com necrose. A presença de *Brucella* spp em tecidos pode provocar a formação de resposta inflamatória com modulação de macrófagos em células epitelióides, infiltração por plasmócitos e linfócitos, podendo assim ocorrer focos de necrose no centro das lesões e o desenvolvimento de cápsulas ao redor das áreas lesionadas devido à proliferação de tecido conjuntivo, porém, a formação de um granuloma depende da resistência natural do organismo, da resistência adquirida e principalmente do número e grau de patogenicidade do agente infectante.

Os órgãos de predileção do gênero *Brucella* são aqueles que oferecem elementos necessários para o seu metabolismo, como o eritritol - álcool polihídrico de quatro carbonos - presente no útero grávidico, tecidos mamários, ósteo-articulares e órgãos do sistema reprodutor masculino, sendo importante ressaltar que humanos, equinos, coelhos e roedores possuem ausência ou baixa produção do eritritol, fato este que justificaria o reduzido impacto da brucelose no aparelho reprodutivo nestas espécies (CARTER; CHENGAPPA, 1991; RIBEIRO et al., 2008; XAVIER et al., 2009).

A infecção do útero gestante ocorre por via hematógena e as alterações variam de acordo com a intensidade da infecção e o tempo de gestação. A afinidade das brucelas pelos trofoblastos parece estar relacionada à presença de elevadas concentrações de eritritol e progesterona na placenta (SILVA et al., 2005).

Nos bovinos, a concentração de eritritol se altera de forma gradativa conforme o período gestacional, atingindo níveis máximos próximo ao parto, aumentando assim a capacidade de infecção e multiplicação dos micro-organismos (CARTER; CHENGAPPA, 1991; LAGE et al., 2008). A evolução do processo inflamatório leva a lesões necrótico-inflamatórias na placenta além de lise das vilosidades, resultando no descolamento dos cotilédones; prejuízo na circulação materno-fetal, dificultando e até mesmo impossibilitando a passagem de nutrientes e oxigênio da mãe para o feto, provocando assim danos que variam de

nascimento de bezerros subdesenvolvidos ao aborto (BISHOP et al., 1994; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; LAGE et al., 2008; XAVIER et al., 2009).

Devido ao desenvolvimento da imunidade celular do animal após o primeiro aborto, há uma diminuição significativa do número e tamanho das lesões nos placentomas nas gestações subsequentes. Diante disso, os abortos tornam-se infrequentes, levando ao aparecimento de outras manifestações da enfermidade como a retenção de placenta, natimortalidade ou o nascimento de bezerros fracos, além de quadros de metrite ou endometrite crônica e consequentemente subfertilidade, infertilidade ou esterilidade (LAGE et al., 2008; RIBEIRO et al., 2008; XAVIER et al., 2009).

Os machos podem apresentar aumento do volume dos testículos de forma uni ou bilateral, além dos epidídimos, ampolas e vesículas seminais. Devido à reação inflamatória do tipo necrosante, pode haver atrofia do órgão afetado, levando a quadros de subfertilidade, infertilidade ou esterilidade (GORVEL; MORENO, 2002; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; LAGE et al., 2008; NOZAKI, 2008).

No aparelho locomotor, os micro-organismos do gênero *Brucella*, principalmente a *B. abortus* localiza-se na bursa, tendões, músculos e articulações, causando artrites, principalmente nas articulações carpianas e tarsianas; espondilites e bursites, especialmente nas vértebras torácicas e lombares, podendo atingir a medula óssea e bainha dos tendões. (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; RADOSTITIS et al., 2007).

Os inchaços nas articulações dos joelhos e jarretes, conhecidos como higromas, também apresentam evidência de brucelose (RADOSTITIS et al., 2007; LAGE et al., 2008).

Veronesi (1991) considera como lesões sugestivas de brucelose em bovinos as alterações denominadas bursites, higroma articular e orquite. As bursites cervicais são lesões inflamatórias de origem hematogênica, caracterizadas como bolsas serosas localizadas na região da cruz, adjacentes à porção funicular do ligamento cervical e apófises espinhosas cervicais. Muitos autores associam a presença de bursite à infecção brucélica, visto a frequência de isolamento e detecção do agente em muitos casos, além da detecção de títulos de anticorpos aglutinantes compatíveis com a doença (PARDI et al., 1956; LANGENEGGER et al., 1975; JUBB et al., 1993; RIBEIRO et al., 2003; FREITAS; OLIVEIRA, 2005; PARDI et al., 2006; VIANA et al., 2010). Porém, em muitos relatos a ação parasitária principalmente pelo gênero *Onchocerca* é uma das causas que predispõe a formação das bursites cervicais não só como causa primária, mas, principalmente, como fator desencadeante de processos inflamatórios graves por infecção secundária (ALMEIDA et al., 2000; COSTA et al., 2001).

Equinos podem apresentar abscessos localizados nas bolsas sinoviais que envolvem a articulação supra-atlantal e supra-espinhosa, reconhecidas na prática clínica como mal da cernelha ou mal da nuca (TIMONEY et al, 1988).

Os ovinos são mais resistentes à infecção que os caprinos, mas, em ambos pode ocorrer a infecção ocasional, sendo a epididimite o principal sinal clínico no ovino e o abortamento no caprino. No caso dos cães, estes também podem abortar pela infecção (CARTER; CHENGAPPA, 1991).

2.5.9 Sinais Clínicos em Humanos

No homem, os sintomas mais comuns são aqueles observados na fase de bacteremia, nos quadros de infecção generalizada, como: febre contínua e intermitente, respiração acelerada, calafrios e suores noturnos profusos com um odor particular. A sintomatologia da brucelose aguda consiste em astenia, fadiga, constipação, anorexia, cefaléia, artralgia e um forte impacto no sistema nervoso levando a neurastenia, depressão, impotência sexual e insônia. Com o agravamento do quadro surgem artrites, espondilites, bursites, dores reumáticas e neuralgia lombar, inflamação na medula óssea e em muitos órgãos onde a bactéria consegue se alojar, principalmente fígado, baço e linfonodos. A possibilidade de mulheres abortarem devido a infecção não é afastada, porém é rara. A maioria dos pacientes recupera-se em um a dois anos, com ou sem tratamento. Os sintomas da forma crônica são causados pela hipersensibilidade às proteínas da bactéria. O diagnóstico clínico da brucelose humana é difícil, pois os sintomas são inespecíficos (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

Alguns pacientes podem não desenvolver sintomas (forma subclínica) ou apresentar sintomatologia inicial inespecífica. Nos pacientes que desenvolvem sintomas, o quadro clínico é variado, podendo ser agudo, subagudo ou crônico. O período inicial da doença é caracterizado por febre, que pode ser intermitente (quadro clássico), acompanhada de mal-estar, sudorese, anorexia e prostração. A brucelose pode durar semanas ou meses se não tratada. A descrição de uma tríade de sintomas que caracteriza a doença (embora inespecífica) é encontrada na literatura e descrita por Brasil(2012):

- Febre: (superior a 38°C), pode se apresentar de forma remitente, intermitente, irregular ou ondulante; apresenta acentuação vespertina, prolongando-se durante a noite, com período de remissão matinal.

- Sudorese profusa: predominantemente noturna, com cheiro desagradável.
- Dor: artralgia de pequenas e grandes articulações, mialgia e cefaleia.

Ruiz-Mesa (2005) descreve a frequência dos sintomas em pacientes com brucelose diagnosticada, que são: febre em 98,7%, artralgia ou artrite em 46,6%, sudorese em 84,0%, sintomas constitucionais (anorexia, astenia, cansaço, perda de peso) em 75,0%, hepatomegalia em 35,2% e esplenomegalia em 20,8% dos pacientes. Formas localizadas foram encontradas em 33,3% dos pacientes avaliados. Na evolução para as formas crônicas, costuma ocorrer localização em órgão-alvo. O comprometimento osteoarticular é responsável por quase metade das complicações focais, podendo ser representado por sacroileíte, espondilite, artrite periférica e osteomielite. Como particularidade das crianças com brucelose, é descrito como achado mais comum da forma osteoarticular a presença de monoartrite, usualmente dos joelhos ou quadril. Complicações genitourinárias podem ocorrer, entre elas: orquiepididimite, glomerulonefrite e abscesso renal.

Manifestações neurológicas não são tão comuns, mas podem ocorrer: neuropatia periférica, coréia, meningoencefalite, eventos isquêmicos transitórios, paralisia de pares cranianos, pseudotumor cerebral, síndrome desmielinizante, lesões de substância branca, mielite transversa, trombose de seios venosos centrais. Quadros semelhantes à depressão e confusão mental são relatados, na pele e mucosas podem ser observadas lesões eritematopapuloses, púrpura, cistos dérmicos e Síndrome de Stevens-Johnson. Manifestações pulmonares podem ocorrer como derrame pleural e pneumonias, sobretudo em casos complicados. As alterações hematológicas encontradas podem variar entre leucocitose ou leucopenia, trombocitopenia e anemia. O comprometimento mais grave, podendo inclusive levar ao óbito, é o cardíaco, sendo estabelecido por lesão valvar, principalmente em valva aórtica, mas podendo acometer múltiplas áreas (BRASIL, 2012).

2.5.10 Diagnóstico em Animais

O diagnóstico laboratorial da brucelose pode ser realizado por método direto e indireto. O método direto consiste no isolamento do agente em cultura a partir de materiais biológicos contaminados por *Brucella* spp. Embora seja o método diagnóstico mais confiável, requer habilidade quanto a colheita e conservação das amostras e na execução da técnica, além de expor o profissional ao agente. Técnicas mais recentes como a reação em cadeia da polimerase (PCR) produzem melhores resultados quando realizadas a partir de bactérias

isoladas em cultivo e exigem mão de obra experiente e equipamentos caros (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

O sucesso da PCR direta de material biológico (tecido placentário e fetal, sêmen, leite, sangue e outros) depende de mais dados a respeito da escolha da amostra e em quanto tempo o DNA bacteriano ainda pode ser detectado na amostra selecionada (BRICKER, 2002).

Os métodos diagnósticos indiretos ou sorológicos consistem na detecção de anticorpos e são os mais utilizados quando se trabalha com rebanhos, pois são rápidos, de fácil execução e baixo custo, além de apresentarem boa sensibilidade e especificidade são a base da luta contra a brucelose, por permitir tanto o monitoramento de propriedades como de regiões inteiras (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

As principais causas de resultados falso-positivos no diagnóstico sorológico da brucelose bovina são decorrentes de dois fatores distintos podem ocorrer reações inespecíficas decorrentes do compartilhamento de epítomos com outros gêneros bacterianos ou até mesmo envolvendo imunoglobulinas da classe IgM, provenientes da vacinação contra brucelose, gerando resultados falso-positivos (ALTON et al., 1988; COSTA, 2001; MINHARRO, 2009). Atualmente, acredita-se que os agentes como *Yersinia enterocolitica* O:9, *Escherichia coli* O:116 e O:157, *Bordetella bronchiseptica*, *Moraxela* spp, *Francisella tularensis*, *Salmonella urbana*, *Pseudomonas maltophilia*, *Staphylococcus* spp, *Campylobacter* spp e outros gêneros possam causar reações cruzadas em testes sorológicos, dificultando o diagnóstico por produzir resultados falso-positivos (COSTA, 2001; OLIVEIRA, 2003; MINHARRO, 2009).

O segundo fator relaciona-se a vacinação de fêmeas com idade superior a oito meses, com amostra B19 de *Brucella abortus*, pois, no momento do teste (acima de 24 meses), ainda poderão ser detectados anticorpos vacinais (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; BRASIL, 2006).

Já os resultados falso-negativos podem ocorrer devido a três fatores distintos: a) fenômeno pró-zona, onde há inibição da aglutinação pela presença de concentrações altas de anticorpos; ou seja, ausência de sinal de aglutinação nas diluições mais baixas dos testes de ligação secundária; porém quando o soro é diluído, o resultado converte-se em positivo. Isso acontecerá em soros com altos títulos de anticorpos ou em bovinos com infecção crônica (CARAS OLASCOAGA, 1976);

b) infecção recente, embora se saiba que ao redor de trinta dias pós-infecção os animais exibem quantidades detectáveis tanto de IgM como de IgG (NIELSEN; DUNCAN, 1990);

c) período pré e pós-parto ou abortamento, 15 dias antes e 20 a 30 dias após, as fêmeas podem apresentar baixos títulos, quando ocorre a mobilização de anticorpos para o colostro e também para os líquidos fetais (BRANDON et al., 1971).

Para contornar esta situação, o Regulamento Técnico do PNCEBT estabelece que fêmeas submetidas a testes sorológicos de diagnóstico para brucelose no intervalo de 15 dias antes do parto até 15 dias após o parto deverão ser retestadas 30 a 60 dias após o parto. Esse regulamento foi instituído em janeiro de 2001, pelo MAPA, com o objetivo de reduzir a prevalência e a incidência de novos focos dessas enfermidades, além da certificação de propriedades como livres ou monitoradas (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; BRASIL, 2006).

A eficácia de um programa de controle e erradicação de qualquer enfermidade depende, em parte, da padronização e qualidade dos procedimentos de diagnósticos utilizados. Dessa forma, os testes oficiais de diagnóstico indireto para brucelose bovina são divididos da seguinte forma:

- (i) Testes de triagem: Teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT); Teste do Anel em Leite (TAL).
- (ii) Testes confirmatórios: Teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME); Teste de Fixação do Complemento (FC).

O AAT é qualitativo, rápido e prático (VASCONCELOS et al., 1987, OMS 1986, PAULIN E FERREIRA NETO 2003), sendo de alta sensibilidade (99,2 %), mas de menor especificidade (98,9 %) (STEMSHORN et al., 1985) quando comparado às outras provas. O antígeno é uma suspensão de *B. abortus* amostra 1119-3 inativada, corada pelo rosa-de-bengala e diluída a 8% em solução-tampão pH 3,65. Esse antígeno é padronizado por comparação com antígeno padrão de referência do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Produz resultados satisfatórios como método diferencial em soros de animais não vacinados e suspeitos ao exame clínico e sorológico, em decorrência de seu pH ácido, que inibe algumas aglutininas inespecíficas, o que torna o teste seletivo para identificação da subclasse IgG1 (VASCONCELOS et al., 1987, MEGID et al., 2000).

O TAL é recomendado em investigação e vigilância epidemiológica, tem alta sensibilidade (97,7%) (HUBER; NICOLETTI 1986) e baixo custo, é rápido e prático, tem como fundamento a detecção de anticorpos da classe IgA presentes no leite. A interação do anticorpo com o antígeno, corado pela hematoxilina ou tetrazólio, permite a formação da malha de aglutinação que se une à gordura e flutua para a superfície da amostra, evidenciada pelo anel colorido (Nielsen 1995).

O teste do 2-ME, usado como confirmatório da enfermidade baseia-se no tratamento prévio do soro com uma solução que contém 2-mercaptoetanol, composto que contém o radical tiol, que destrói os anticorpos da classe IgM e detecta exclusivamente IgG (POESTER et al., 1997, MEGID et al., 2000, CAVALLÉRO 1998), o que permite determinar o estado de infecção ativa (SAMARTINO et al., 2000, MACMILLAN 1990, ALTON et al., 1988). Os resultados positivos obtidos por esse teste estão relacionados com a infecção, porém os resultados inconclusivos devem ser definidos por outras provas, como a fixação de complemento ou os animais devem ser retestados em um prazo de 30 a 60 dias e a interpretação é feita simultaneamente com o SAL, conforme preconizado pelo PNCEBT.

A interpretação dos resultados é feita pela diferença entre os títulos dos soros sem tratamento (prova lenta), frente ao soro tratado com 2-ME. Os resultados positivos na prova lenta e negativos no 2-ME devem ser interpretados como reações inespecíficas ou devido a anticorpos residuais de vacinação com amostra B19 de *Brucella abortus*. Resultados positivos em ambas as provas indicam a presença de IgG, que são as aglutininas relacionadas com infecção, devendo os animais serem considerados infectados (BRASIL, 2006). Apesar da FC detectar tanto IgG 1 como IgM, o isótipo IgG 1 é muito mais efetivo como fixador de complemento. Animais infectados permanecem positivos por períodos mais longos e com títulos fixadores de complemento mais elevados do que nas provas de aglutinação. Em animais vacinados acima de oito meses de idade, os anticorpos que fixam complemento desaparecem mais rapidamente que os aglutinantes (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; BRASIL, 2006).

Caso o soro do animal apresente o anticorpo correspondente à infecção, o complemento será fixado ao complexo antígeno-anticorpo específico. Porém se o soro não contiver anticorpos específicos, o complemento permanecerá livre. O indicador é uma suspensão de 3% de células sanguíneas vermelhas de ovelha (SRBC) sensibilizadas com um volume igual de soro de coelho anti-srbc (hemolisina), preparada em uma diluição previamente determinada contendo cinco vezes a concentração mínima de hemolisina requerida para produção de 100% de lise das SRBC. Com a adição das SRBC sensibilizadas o sistema hemolítico se completará e ocorrerá hemólise. Ao contrário, se o complemento tiver sido ligado ao complexo antígeno-anticorpo não ocorrerá hemólise, pois não haverá complemento livre para se ligar com os eritrócitos sensibilizados (OIE, 2000). Atualmente, novos métodos de diagnóstico também podem ser utilizados como ferramenta auxiliar no diagnóstico da brucelose bovina, como: (i) teste de imunoadsorção enzimática (ELISA)

indireto (i-elisa); (ii) teste de ELISA competitivo (c-elisa); (iii) teste de polarização de fluorescência (FPA), esses três são testes indiretos.

2.5.11 Diagnóstico Laboratorial Específico para Humanos

O diagnóstico laboratorial específico da brucelose pode ser realizado por meio de testes diretos (cultura e PCR) e testes indiretos (imunológicos – Rosa Bengala, teste de soroaglutinação/SAT, teste de microaglutinação/MAT, ELISA, Ensaio Homogêneo de Fluorescência Polarizada/FPA, Imunofluorescência Indireta, entre outros. Em caso de exposição profissional à cepa vacinal de *Brucella abortus* RB51, deve-se lembrar que os testes diagnósticos disponíveis – que se baseiam na detecção de anticorpos de cepa lisa –, inclusive os de triagem, sempre serão negativos, pois neste caso, em especial, há estímulo à produção de anticorpos de cepa rugosa nos indivíduos expostos (BRASIL, 2012).

O diagnóstico da doença é feito pelo critério clínico epidemiológico e pelo critério laboratorial. O método laboratorial utilizado na rede do Sistema Único de Saúde (SUS) é o teste sorológico por reação de aglutinação rápida com antígenos de *B. abortus*, conhecido como rosa de bengala (BRASIL, 2008).

A baixa especificidade do teste rosa de bengala indica que, pelo menos em áreas endêmicas, ele não deveria ser utilizado como ferramenta de diagnóstico, especialmente em indivíduos com exposição ocupacional (SERRA; VIÑAS, 2004).

Para Alişkan (2008), o método ideal para diagnóstico da brucelose baseado em história clínica detalhada é obtido por isolamento de *Brucella* spp a partir de culturas de sangue sendo que o diagnóstico definitivo da brucelose exige isolamento da bactéria a partir de sangue de medula óssea ou de amostras de tecido. A cultura de medula óssea é considerada como padrão-ouro para o diagnóstico da brucelose, uma vez que a concentração relativamente elevada de *Brucella* no sistema retículo endotelial permite a detecção do organismo.

Basapa et al. (2010) afirmam que o teste de ELISA tem oferecido uma vantagem significativa sobre os métodos de diagnóstico convencionais de aglutinação, no diagnóstico da brucelose, em áreas onde a doença é endêmica. Para eles, aplicação de uma combinação de ELISA IgM e IgG poderia ser de valor para o diagnóstico definitivo da brucelose nos países em desenvolvimento, nos quais as capacidades de diagnóstico por meio de cultura, incluindo sistemas de cultura automatizada e PCR, são pobres. Os resultados obtidos em seu estudo

indicam claramente que tanto o 2-ME quanto o ELISA IgG são ferramentas valiosas no acompanhamento de casos, para monitoramento e justificativa da terapia prolongada dos pacientes.

2.5.12 Diagnóstico Diferencial para Humanos

A brucelose é uma doença com amplo espectro clínico, podendo mimetizar uma grande variedade de doenças, infecciosas ou não. Entre elas: tuberculose, febre tifóide, endocardite infecciosa, leptospirose, criptococose, histoplasmose, mononucleose, malária, doenças do colágeno/vasculites, síndrome da fadiga crônica, neoplasias, transtornos neuropsiquiátricos (principalmente depressão). Nesse contexto de dificuldade de diagnóstico clínico, pela similaridade da doença com outras entidades, é de extrema importância à história epidemiológica, pesquisando o contato com potenciais animais infectados ou ingestão de produtos contaminados (e não adequadamente processados) (BRASIL, 2012).

O acometimento vertebral pela brucelose dificulta a realização do diagnóstico diferencial já que se assemelha a várias doenças, como hérnia de disco, espondilodiscite tuberculosa, lesões metastáticas, osteomielite piogênica, actinomicoses e plasmocitoma. A tuberculose vertebral, devido à sua alta prevalência no Brasil, é considerada o diagnóstico diferencial de maior importância (CAL et al., 2014).

2.5.13 Vacinação

O principal objetivo da vacinação é reduzir a taxa de infecção em zonas de prevalência elevada e obter rebanhos resistentes à doença, visando à erradicação (ACHA; SZYFRES, 1986).

Desde a identificação do agente etiológico da brucelose, têm-se buscado o desenvolvimento de vacinas que sejam protetoras e que não interfiram no diagnóstico da doença. Em decorrência de estudos, muitas vacinas têm sido desenvolvidas tais como: vacinas vivas atenuadas, mortas, de subunidades, recombinantes e de DNA, porém muitas se mostraram pouco protetoras, como as vacinas mortas, ou ainda estão em fase de testes, como as de subunidades, recombinantes e de DNA (BRASIL, 2006).

As vacinas vivas atenuadas são aquelas que efetivamente foram e ainda são utilizadas nos programas de controle da brucelose. Duas delas, a B19 e a RB51, são recomendadas pela OIE (BRASIL, 2006), sendo as mais empregadas.

Vacina B19 Também chamada anabortina é a mais utilizada, entretanto, como toda vacina, apresenta vantagens e desvantagens. É uma vacina estável, não se multiplica em presença do eritritol e causa mínimas reações locais e sistêmicas após sua inoculação (ALTON et al., 1988).

Essa vacina estimula o sistema imune do animal vacinado a resistir à doença, produzindo anticorpos específicos contra o LPS liso da parede celular da *B. abortus*. Normalmente um animal vacinado será resistente a doença por um período extenso de tempo (anos), porém os anticorpos detectáveis desaparecerão em poucos meses (RICKEY; HARRELL, 1997). A persistência desses anticorpos está relacionada com a idade de vacinação. A vacina B19 é atenuada para fêmeas bovinas e bubalinas vacinadas entre três e oito meses de idade e pode ser perigosa para machos de quaisquer espécies, incluindo o homem, devido a virulência residual que conserva, quando a vacinação ocorre até os oito meses de idade, tais anticorpos desaparecem rapidamente, e os animais acima de 24 meses são totalmente negativos nas provas sorológicas (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; BRASIL, 2006).

Com a implantação do PNCEBT em janeiro de 2001, tornou-se obrigatória a vacinação de fêmeas bovinas e bubalinas, entre três e oito meses de idade, com a estirpe B19, em todo o território brasileiro, visando baixar a prevalência e a incidência desta enfermidade. Única exceção a esse item é o estado de Santa Catarina (Portaria nº11 de 26 de janeiro de 2004) que de acordo com inquérito soroepidemiológico para brucelose bovina, no ano de 2002, realizado por autoridades sanitárias deste Estado, apresentou prevalência muito baixa de propriedades e animais infectados por essa doença. Diante da prevalência encontrada a vacinação não trará efeitos benéficos, além do que o uso da vacina elaborada com amostra B19 pode interferir nos resultados dos testes de diagnóstico, recurso sistematicamente utilizado em áreas em processo de erradicação. Como algumas raças de bovinos são precoces, recomenda-se a vacinação das fêmeas entre três e seis meses, a fim de diminuir a interferência dos anticorpos persistentes no sorodiagnóstico, garantindo que as novilhas apresentem resultado negativo ou desprezível quando submetidas ao seu primeiro teste (RICKEY; HARRELL, 1997; BRASIL, 2006).

O fato da vacina B19 induzir anticorpos contra a cadeia O do LPS liso da parede celular das brucelas, e isso interferir com o diagnóstico sorológico, estimulou a procura por

mutantes rugosas, livres da cadeia O, estáveis, e atenuadas o suficiente para produzir colonização do hospedeiro por algumas semanas, provocando resposta imune duradoura (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). A vacina RB51 é uma estirpe mutante criada a partir da *B. abortus* nº2308, após sucessivas passagens em meios contendo rifampicina. Esta estirpe apresenta características de proteção semelhantes à estirpe B19, gerando resposta imune celular e humoral, porém sem induzir a formação de anticorpos anti-LPS liso, não interferindo assim, no diagnóstico sorológico convencional da doença (SCHURIG et al., 1991). Vacas adultas, prenhes ou não, vacinadas com vacina RB51 não apresentam soroconversão frente aos testes sorológicos convencionais. A revacinação não altera a condição sorológica (negativo), mesmo quando se utilizam múltiplas doses de RB51 nesses animais (POESTER et al., 2000).

2.5.14 Tratamento em Humanos

Como a brucelose é uma doença que apresenta um amplo espectro clínico, podendo apresentar formas graves e de grande morbidade, surge a tendência de acesso ampliado ao tratamento. Mas, por outro lado, deve-se lembrar que as medicações comumente usadas não são isentas de efeitos colaterais, por vezes tão graves quando a própria doença, além da possibilidade de resistência bacteriana. Portanto, o tratamento deve ser pensado e planejado para os pacientes que realmente o necessitem. A Organização Mundial da Saúde (OMS) orienta que sejam tratados apenas os casos confirmados, ou seja, que tenham quadro clínico e epidemiologia compatível, além da comprovação laboratorial (teste de triagem e teste confirmatório positivo). Num contexto de impossibilidade da realização dos testes confirmatórios, admite-se a possibilidade de tratamento dos casos prováveis (clínica+epidemiologia+teste de triagem positivo) (BRASIL, 2012).

O esquema terapêutico considerado mais eficaz é a doxiciclina. Há controvérsias quanto à instituição ou não da politerapia. Alguns autores afirmam que a politerapia reduz as recidivas, principalmente se um dos antibióticos utilizados for a estreptomicina. Devido à sua ototoxicidade, alguns estudos sugerem que esta deve ser substituída pela gentamicina ou pela rifampicina. A rifampicina altera a metabolização hepática da doxiciclina, tornando difícil prever os níveis séricos destes medicamentos quando associados. O tratamento de endocardite causada por *Brucella* spp usualmente requer cirurgia e terapia antimicrobiana. As lesões

oculares, por serem consideradas complicações tardias, são habitualmente tratadas com os esteroides (LAWINSKY et al.,2010).

Quando estiver diante de paciente com suspeita de infecção associada à cepa vacinal de *Brucella abortus* RB51, o esquema de tratamento não deverá conter rifampicina, pois esta cepa é intrinsecamente resistente à droga (BRASIL, 2012).

Caso a suspeita de recidiva ocorrer neste período (6 a 12 meses), os anticorpos detectados podem ser inerentes à primeira infecção, razão pela qual se recomenda a comparação entre os resultados dos testes realizados durante a primeira infecção e durante a suspeita de recidiva, desde que sejam do mesmo laboratório e com a mesma metodologia (BRASIL, 2012).

2.5.14.1 Pessoas Expostas à Brucelose

Pessoas que foram expostas à *Brucella* spp, sejam pelo contato com material contaminado em suas atividades profissionais ou pela ingestão de alimentos não adequadamente processados devem passar por avaliação clínica e laboratorial, inicialmente em unidade de saúde. Apresentando sintomatologia, devem ser enquadrados como caso suspeito ou confirmados (após a realização dos exames) e manejados como tais, em unidade de referência . É importante orientar quanto aos principais sintomas da doença e reavaliar o paciente, inclusive com novo teste de triagem, caso haja aparecimento de clínica compatível (BRASIL, 2012).

A contaminação em laboratórios pode ser associada à aspiração de culturas bacteriológicas, contato direto com a pele, formação de aerossóis (como durante o teste da catalase e de extração de DNA das amostras), pipetagem com a boca (contraindicado na manipulação de *Brucellas*) e borrifação na conjuntiva, no nariz e boca. Qualquer pessoa presente no laboratório durante o trabalho de identificação de um isolado patogênico de *Brucella* é considerado um trabalhador exposto (LAWINSKY et al., 2010).

2.5.14.2 Exposição à Cepa Vacinal (acidente ocupacional)

Em caso de acidente com exposição a essa cepa, como por exemplo, autoinoculação durante procedimento de vacinação animal, ou acidente causando contato do

spray da vacina com a mucosa ocular, deve-se acompanhar o exposto em serviço de referência com avaliação clínica e exames laboratoriais (transaminases e provas de atividades inflamatórias), por um período de até dois anos (consultas no 1º-2º-3º-6º-12º-18º-24º meses). No momento, não se recomenda o uso de profilaxia pós-exposição. Caso se observe alteração desses exames inespecíficos (que antecedem manifestações clínicas) se deve iniciar imediatamente tratamento (em paciente assintomático) (BRASIL, 2012).

2.5.14.3 Prevenção e Controle da Doença em Animais

Deve-se rastrear a infecção no rebanho, por provas sorológicas, ou analisar o leite da vaca (prova do anel); deve-se eliminar os animais infectados (separação ou sacrifício). Os animais que serão sacrificados devem, de acordo com o Programa Nacional de Erradicação e Controle da Brucelose no Brasil, ser encaminhados ao abate sanitário em estabelecimento com serviço de inspeção de carcaças. Se não houver alternativa, podem ser sacrificados na unidade de criação, seguindo os critérios recomendados e com acompanhamento do serviço oficial de defesa sanitária (LAGE et. al., 2006).

A infecção nos suínos comumente obriga o sacrifício de todo o rebanho. Em zonas de alta prevalência, deve-se imunizar as cabras e ovelhas jovens com a cepa Rev-1 de *B. melitensis*; desde 1996, nos países da América do Norte, se utiliza a vacina da cepa RB51 para imunizar o gado em substituição à cepa 19 da *B. abortus*, porém a eficácia dessa vacina em bovinos tem sido questionada. A RB51 pareceu ser menos virulenta para os humanos do que a cepa 19, quando inoculada acidentalmente durante a vacinação dos animais (BRASIL, 2010b; HEYMANN, 2005).

Além disso, o leite e produtos lácteos devem ser pasteurizados. O leite deve ser fervido na impossibilidade de pasteurização. Deve-se ter também cuidado com o manejo e eliminação de placentas, secreções e fetos dos animais, e sempre desinfetar áreas contaminadas (HEYMANN, 2005).

Em situações de epidemia, deve-se investigar a infecção até descobrir sua fonte, que deve estar em um rebanho ou em produtos lácteos de cabra ou vaca. Deve-se realizar provas diagnósticas nos animais suspeitos e eliminar os sororreagentes. Os alimentos devem ser confiscados e devem ser tomadas as devidas providências para incineração, até que sejam instituídas medidas de prevenção definitivas. Em laboratórios, observar o cumprimento das

normas de biossegurança, principalmente pelo uso correto dos equipamentos de proteção individual (BRASIL, 2010b; HEYMANN, 2005).

2.5.14.4 Prevenção e Controle da Brucelose em Humanos

O controle da brucelose requer colaboração multidisciplinar entre os serviços médicos humano e animal na vigilância ativa a nível local, e monitoramento integrado da doença em nível regional, nacional e internacional (WHO, 2004).

Medidas de controle da brucelose são baseadas na prevenção dos fatores de risco. A vigilância é um elemento fundamental para a gestão de programas de prevenção e controle (PAHO, 2000). A prevenção da brucelose no homem depende, sobretudo do controle e erradicação da doença nos animais (PESSEGUEIRO; BARATA; CORREIA, 2003). De acordo com Zinsstag et al. (2007), a eliminação da brucelose só será possível por meio da intervenção nos reservatórios animais.

Consequentemente, a incidência dessa doença no homem tem diminuído nos países que têm buscado erradicar a infecção nos animais (FIORI et al., 2000).

Vacinação e controle sanitário dos rebanhos (eliminação dos animais doentes) são medidas de controle (BRASIL, 2010a).

Intervenções no rebanho devem sempre ser acompanhadas por informação massiva, educação e programas de comunicação (ZINSSTAG et al., 2007). Torna-se, também, fundamental a adoção de medidas de proteção nas diferentes atividades profissionais como a proteção individual ao manipular fetos ou produtos de abortos (POESTER, 2009a).

Numa exploração animal, as pessoas devem utilizar equipamentos de proteção individual-EPIs (luvas, óculos, máscaras e botas), fazer a eliminação (abate sanitário) dos animais excretadores (doentes), assim como dos produtos excretados de animais doentes (sangue, vísceras, abortos, carcaças), além de cuidados no momento da imunização dos animais (NOCITI et al., 2008).

Nos laboratórios deve-se se atentar para o atendimento aos quesitos de biossegurança e boas práticas laboratoriais (BRASIL, 2010a).

Ações e medidas de vigilância sanitária para reprimir a atividade clandestina de abate de animais para consumo humano devem ser postas em execução, como objetivo de prevenir o risco potencial de infecção brucélica zoonótica (FREITAS et al., 2001). A inspeção sanitária dos produtos de origem animal é uma medida de controle importante (BRASIL, 2010a), visto que, de acordo com o artigo 163 do Regulamento da Inspeção Industrial e

Sanitária de Produtos de Origem Animal –RIISPOA, Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, devem ser condenadas as carcaças bovinas com lesões extensas de brucelose e nos casos de lesões localizadas, encaminham-se as carcaças à esterilização pelo calor depois de removidas e condenadas as partes atingidas. Ainda conforme este normativo dá-se o mesmo destino para carcaças de outras espécies animais acometidas por brucelose (BRASIL, 1952).

A população deve ser orientada para apenas consumir leite ou derivados lácteos pasteurizados ou fervidos (BRASIL, 2010a).

Com relação ao turismo, embora muitos dos viajantes estejam dispostos a experimentar novas preparações e comidas exóticas, eles precisam ser claramente informados sobre os modos de transmissão da doença, para que possam ter cuidado ao se alimentarem, principalmente com relação a alimentos de vendedores ambulantes, em países endêmicos para a doença, para não se exporem a infecções por *Brucella* spp (GODFROID et al., 2005).

Educação em saúde ao público deve, também, enfatizar aos pacientes para se apresentarem ao serviço médico em tempo oportuno, quando os sintomas crônicos e complicações ainda não se desenvolveram, pois uma busca médica tardia pode acarretar em um prognóstico ruim, mesmo depois de tratamento (KUNDA et al., 2007)

Até o presente, não foi encontrada qualquer vacina eficaz e segura para o homem, embora já tenham sido usadas vacinas vivas atenuadas e vacinas criadas a partir de subunidades da *Brucella*. Estas demonstraram pouca utilidade prática (conferiam proteção contra as formas mais graves por um período inferior a dois anos) e riscos elevados, no caso das vacinas vivas (LAWINSKY et al., 2010).

Assim, dada a necessidade evidente de uma vacina humana, os estudos prosseguem, estando a ser avaliada a potencial aplicação nos humanos de vacinas derivadas de mutantes de *Brucella melitensis*, que parecem ser seguras nos animais (HEYMANN, 2005).

A vacinação tem ainda um pequeno papel na prevenção da doença em humanos, embora, no passado, várias tentativas tenham sido feitas, incluindo a vacina atenuada de *B. abortus* da cepa B19-B e 104M (utilizada principalmente na União Soviética e na China), a vacina de peptídeo glicano fenol-insolúvel disponível na França e a vacina de proteína-polissacarídeo, utilizada na Rússia. Todas têm eficácia limitada, e, no caso das vacinas vivas, foram associadas com sério risco de reação. O desenvolvimento de vacina eficaz é de muito interesse. As vacinas vivas têm provocado reações inaceitáveis em indivíduos expostos previamente à *Brucella* ou quando ministrada acidentalmente (CORBEL et al., 1997).

A nova vacina requer provavelmente uma combinação de um conjugado de lipopolissacarídeo-proteína detoxificada e antígenos proteicos, como as proteínas ribossômicas L7/L12, com um adjuvante que favoreça a resposta dos linfócitos T. Para a produção de uma nova vacina viva atenuada, têm sido feitos grandes investimentos e estudos. O melhor resultado obtido até então vem do desenvolvimento da cepa rugosa de *B. abortus* RB51, uma cepa mutante, derivada da cepa lisa e virulenta S2308 de *B. abortus*. A desvantagem desta cepa é ser resistente à rifampicina, um dos antibióticos utilizados no tratamento da brucelose humana (LAWINSKY et al., 2010).

Avanços na tecnologia de desenvolvimento de vacinas permitiram a introdução de novas estratégias para a obtenção e produção de antígenos, como as vacinas de subunidades, de segunda geração. Porém, estas vacinas conferem imunidade apenas humoral (CORBEL et al., 1997; PESSEGUEIRO et al., 2003; HEYMANN, 2005).

2.5.14.5 Dados Brasileiros

No Brasil, de acordo como Sistema de Informações Hospitalares do SUS - SIH/SUS (BRASIL, 2011b), do Ministério da Saúde, de janeiro de 2008 a abril 2011, houve 108 (cento e oito) internações devido à brucelose, no âmbito do SUS, sendo 13 (treze) na Região Norte, 17 (dezessete) na Região Nordeste, 34 (trinta e quatro) na Região Sudeste, 38 (trinta e oito) na Região Sul e 6 (seis) na Região Centro-Oeste. A média de dias de internação por brucelose no Brasil, naquele período, foi de 9,5 dias. Com relação ao número de óbitos ocorridos, foram 4 (quatro) durante este mesmo período, sendo 1(um) óbito na Região Nordeste, 1 (um) na Região Sudeste e 2 (dois) na Região Sul do Brasil.

2.5.15 Vigilância Epidemiológica

A brucelose é uma zoonose derivada do contato direto ou indireto com animais infectados. A incidência em humanos varia de acordo com a densidade do rebanho bovino, o nível socioeconômico e os hábitos alimentares. A sua distribuição acompanha a criação e o comércio de gado. A brucelose é considerada uma doença emergente desde a descoberta da *Brucella melitensis* por Bruce em 1887. Cada tipo de brucela tem características epidemiológicas diferentes. A *B. abortus* é a forma mais difundida, presente no rebanho

bovino. Em humanos, a *B. melitensis* é a mais importante, clinicamente, porém sem descrição no Brasil. (LAWINSKY et al., 2010).

A incidência em áreas endêmicas varia amplamente, de $< 0,01$ a > 200 por 100 mil habitantes. Enquanto algumas áreas como o Peru, Kuwait e partes da Arábia Saudita apresentam uma incidência alta de infecções agudas, a baixa incidência relatada em outras áreas endêmicas para brucelose pode refletir falhas de vigilância e notificação. Nos Estados Unidos, 85% das infecções por *B. abortus* são causadas pelo biótipo 1⁸. No Brasil, a brucelose foi detectada pela primeira vez por Gonçalves Carneiro, em 1913. A brucelose bovina é a mais comum, portanto esta zoonose está ligada principalmente às atividades profissionais que lidam com bovinos (BRASIL, 2010b).

O objetivo de uma vigilância epidemiológica eficaz para a brucelose é reduzir a morbimortalidade por meio de articulação com os órgãos responsáveis pelo controle sanitário dos rebanhos, alertando a vigilância sanitária sobre contaminação de produtos e a vigilância epidemiológica sobre os focos de infecção. No Brasil não se faz notificação de casos isolados; se ocorrer em surtos, a doença deve ser notificada e realizada investigação epidemiológica para adoção das medidas de controle e prevenção necessárias (BRASIL, 2010b; HEYMANN, 2005).

2.5.16 Definição de Caso

- Suspeito: Todo paciente com quadro de febre, agudo ou insidioso, história epidemiológica sugestiva de contato com produto de origem animal contaminado ou de animais infectados e com outras manifestações clínicas sugestivas de brucelose (LAWINSKY et al., 2010).
- Provável: Caso suspeito com diagnóstico laboratorial presuntivo (triagem) (LAWINSKY et al., 2010).
- Confirmado: Paciente com todas as características suspeitas confirmadas por exames laboratoriais (BRASIL, 2010b; HEYMANN, 2005).

2.6 REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales: bacteriosis y micosis**. 3rd ed. Washington: OPAS, 2001. 416 p.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**. 2.ed, Washington; Organización Panamericana de la Salud. 989p. 1986.

ALMEIDA, L. P.; REIS, D. O.; GERMANO, P. M. L. **Brucelose em bovinos com bursite cervical diagnosticada em abatedouro sob inspeção federal**. Ciência Rural, Santa Maria, v. 30, n. 2, abr. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782000000200015&lng=en&nrm=iso>.

Acesso em: 15 mai. 2016.

ALTON, G. G.; JONES, L. M.; ANGUS, R. D.; VERGER, J. M. Techniques for the Brucellosis Laboratory. **Institut National de la Recherche Agronomique**, 1988. Paris, France, 190 p.

ALIŞKAN, H. **The value of culture and serological methods in the diagnosis of human brucellosis**. Mikrobiyol Bul. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18444578>>.

Acesso em: 16 mai. 2016.

ARÉSTEGUI, M. B.; GUALTIERI, S. C.; DOMÍNGUEZ, J.; SCHAROVSKY, O. G. **El género Brucella y su interacción con el sistema mononuclear fagocítico**. Veterinaria México, Mexico, v. 32, n. 2, p. 131-139, abr-jun. 2001. Disponível em: <<http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2001/vm012f.pdf>>.

Acesso em: 16 mai. 2016.

BALDWIN, C.L., PARENT, M. **Fundamentals of host immune response against Brucella abortus: what the mouse model has revealed about control of infection**. Veterinary Microbiology, Amsterdam, v. 90, n. 1-4, p. 367-382, dez. 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12414157>>.

Acesso em: 13 mai. 2016.

BASAPPA, Mantur et al. **ELISA versus Conventional Methods of Diagnosing Endemic Bruce**. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2010.

Disponível em: <<http://www.ajtmh.org/content/83/2/314.full.pdf+html>>. Acesso em: 16 mai. 2016.

BISHOP, G. C.; BOSMAN, P. P.; HERR, S. Bovine brucellosis. In: Coetzer JA W, Thomson GR, Tustin RC. **Infections diseases of livestock with special reference to Southern Africa**. Oxford University Press, Cape Town 1.ed., p.1054-1066, 1994.

BRANDON, M. R.; WATSON, D. C.; LASCELLES, A. K. **The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows.** The Australian journal of experimental biology and medical science., v.49, p.613-623, 1971.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952.** Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Brasília, 1952.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 1428, de 26 de Novembro de 1993.** Diário Oficial da União. Brasília, DF, 2 dez. 1993.

BRASIL. Ministério da Saúde. Décima Conferência Nacional de Saúde. **Educação em Saúde: Histórico, Conceitos e Propostas.** Brasília: 1996. Disponível em: <<http://www.datasus.gov.br/cns/temas/educacaoasaude.html>>. Acesso em: 14 mai. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 326 – SVS/MS de 30 de julho de 1997. Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos.** Brasília: Ministério da Saúde, 1997.

BRASIL, Joachin (Org.). **Doenças Infecciosas em Animais Domésticos.** São Paulo: Roca, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Boletim de defesa sanitária animal,** Brasília: MAPA, v. 30, n. 53-57, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 216, de 15 de Setembro de 2004.** Diário Oficial da União. Brasília, DF, 16 set. 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Manual Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT).** 184p, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso.** 8. ed. rev. Brasília: Ministério da Saúde, 2010a, 448p.

BRASIL,. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Doenças infecciosas e parasitárias.** 8. ed. Brasília; 2010b,p.103-5.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº104 de 25 de janeiro de 2011. Define as terminologias adotadas em legislação nacional, conforme o disposto no Regulamento Sanitário Internacional 2005 (RSI 2005), a relação de doenças, agravos e eventos em saúde pública de notificação compulsória em todo o território nacional e estabelece fluxo, critérios, responsabilidades e atribuições aos profissionais e serviços de saúde.** Brasília, 2011a.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Morbidade do SUS por local de residência: Lista morbidade CID - 10: Brucelose. Internações, Óbitos e Média de permanência em internação por ano processamento segundo Região.** 2011b. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/nruf.def>>. Acesso em: 14 mai. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Balança Comercial, 2011c. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/cooperativismo-associativismo/noticias/2011/01/exportacoes-batem-uss-76-bi-e-alcancam-maior-valor-da-historia>>. Acesso em: 16 mai. 2016.

BRASIL. Diretoria de Vigilância Epidemiológica – DIVE/SES/SC e Laboratório Central de Saúde Pública – Lacen/SES/SC. **Protocolo Estadual de Vigilância e Manejo Clínico de Brucelose Humana**, Santa Catarina, janeiro de 2012.

BRASIL. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. **Análise da Conjuntura Agropecuária, 2012/13.** Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/corte_2012_13.pdf> Acesso em: 23 de abril de 2016

BRASIL. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. **Análise da Conjuntura Agropecuária, 2014/15.** Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/bovinocultura_de_corte_2015_.pdf>. Acesso em: 28 de abril de 2016

BRICKER, B. J. **PCR as a diagnostic tool for brucellosis.** Veterinary Microbiology, v. 90, p.435-446, 2002.

CAL, C.A.M. F.; VALENTE, L. C., PEREIRA, M. L.C.; MOTA, M. A.; NAKAOKA, V.Y.E. DA S.; KASHIWABARA, T. G. B. **Brucelose: uma revisão de literatura.** Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research- BJSCR.Vol.6,n.3,pp.53-56(Mar–Mai 2014). Disponível em: <http://www.mastereditora.com.br/bjscr>>. Acesso em: 1 de maio de 2016.

CAMPANÃ, R. N.; GOTARDO, D. J.; ISHIZUCA, M. M. **Epidemiologia e Profilaxia da Brucelose Bovina e Bubalina.** Coordenadoria de Defesa Agropecuária CDA/SAA. Campinas, São Paulo, 2003, 20p.

CAMPOS, A. C. P.; FRENEAU, G. E.; ACYPRESTE, C. S.; DIAS-FILHO, F. C.; BUENO, V. F. F.; SOUZA, J. P.; RESENDE, L. C. Brucelose Bovina: prevalência de anticorpos anti *Brucella abortus* em reprodutores bovinos na microrregião de Goiânia. Ciência Animal Brasileira, v. 4, n.2, p.125-129, 2003.

CAMPOS, D. I.; COELHO, H. E.; KAMIMURA, R.; ARANTES, V. M. A. **Alterações microscópicas em linfonodos de bovinos sorologicamente positivos para brucelose.** Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, Umuarama, v.12, n. 2, p.123-127, jul./dez. 2009. Disponível em: <<http://revistas.unipar.br/veterinaria/article/view/2965/2166>>. Acesso em: 16 mai. 2016.

CARAS OLASCOAGA, R. **Diagnóstico serológico de la brucelosis.** Buenos Aires, Argentina. Zoonosis, v.18, n.3/4, p.107-141, 1976.

CARDOSO, P. G.; MACEDO, G. C.; AZEVEDO, V.; OLIVEIRA, S. C. *Brucella spp* noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system. **Microbial Cell Factories**, London, v. 5, n. 13, mar. 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1435926/>>. Acesso em: 15 mai. 2016.

CARTER, G. R.; CHENGAPPA, M. M. *Brucella* (cap. 24). **Essentials of veterinary bacteriology and mycology**. 4.ed. Philadelphia: London, p.196-201. 1991.

CARVALHO, M. S.; BARROSO, M. R.; PINHAL, F.; TAVARES, F. M. **Brucelose: Alguns aspectos epidemiológicos.** Medicina Interna, Lisboa, v. 2, n. 4, p. 259-261. 1995. Disponível em: <<http://www.spmi.pt/revista/vol10/vol10-n2-brucelose.pdf>>. Acesso em: 16 mai. 2016

CAVALLÉRO, J. C. M.; POESTER, F. P.; MATHIAS, L. A. **Enfermidades da reprodução: Brucelose.** In: Lemos RAA (org.), Barros N (org.), Brum KB (org.). **Enfermidades de interesse econômico em bovinos de corte perguntas e respostas.** Editora UFMS. Campo Grande, 2002.

CAVALLÉRO, J. C. M. **Enfermidades causadoras de aborto: brucelose.** In: LEMOS, R. A. A. **Principais enfermidades de bovinos de corte do Mato Grosso do Sul: reconhecimento e diagnóstico.** Campo Grande, MS: Ed UFMS; p.408-441, 1998.

CHRISTIE, T. E. **Eradication of brucellosis in Northern Ireland: Field problems and experiences.** Veterinary Record, v. 85, p. 268-269, 1969.

CLOECKAERT, A.; VERGER, J.; GRAYON, M.; PAQUET, J.; GARIN-BASTUJI, B.; FOSTER, G.; GODFROID, J. **Classification of *Brucella spp.* isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the omp locus.** Microbes and Infection, Paris, v.3, p. 729-738, 2001. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11489421> >. Acesso em: 16 mai. 2016.

CORBEL, M.J. **Brucellosis: an overview.** Emerg Infect Dis, v. 3, n. 2, p.213-21, 1997.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades infecciosas dos animais domésticos.** 2. ed. São Paulo: Mads, 1992, p. 213-215.

CORRIJO, K. F.; DIAS, F. S.; PINTO, S. M.; ABREU, D. L. C.; MIRANDA, Z. B. **Avaliação das boas práticas e condições higiênico-sanitárias na elaboração de alimentos em um restaurante universitário do Rio de Janeiro, RJ.** Revista Higiene Alimentar, v. 24, n. 41, p. 17-22, 2010.

COSTA, I. C.; MESQUITA, A. J.; LINHARES, G. F. C.; FREITAS, M. R. Emprego da reação em cadeia da polimerase, ELISA, soroaglutinação rápida e cultivo microbiológico na elucidação da etiologia da bursite cervical. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 8, n. 3, p. 155-159, set./dez. 2001.

CRAWFORD, R.P.; HUBER, J. D.; ADAMS, B. S. **Epidemiology and surveillance.** In: NIELSEN, K.; DUNCAN, J. R. (Ed.). *Animal brucellosis*. Boca Raton: CRC Press, 1990, p. 131-151.

DIAS, I. C. L. **Prevenção de zoonoses ocupacionais em abatedouros de bovinos.** Revista Vivências, São Luís, v.8, n.15, p.89-98, Outubro/2012.

FICHT, T. A. **Intracellular survival of *Brucella*: defining the link with persistence.** Vet. Microbiol. Apr., v.92 ,n. 3, p.213-23, 2003.

FIORI, P. L.; MASTRANDREA, S.;RAPPELLI, P.;CAPPUCCINELLI, P. ***Brucella Abortus InfectionAcquired in Microbiology Laboratories.*** Journal of Clinical Microbiology, Sassari, p. 2005-2006, 2000.

FOSTER, G.; OSTERMAN, B. S.; GODFROID, J.; JACQUES,I.; CLOECKAERT, A. ***Brucella ceti sp. nov. and Brucella pinnipedialis sp. nov. for Brucella strains with cetaceans and seals as their preferred hosts.*** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,Reading, v. 57, p. 2688–2693, 2007. Disponível em: <<http://ijs.sgmjournals.org/cgi/reprint/57/11/2688>>. Acesso em: 17 mai. 2016.

FREITAS, J. de A.; GALINDO, G. A. R.; SANTOS, E. J. C. dos; SARRAF, K. de A.;OLIVEIRA,J. P. de. **Risco de brucelose zoonótica associado a suínos de abate clandestino.** Revista de Saúde Pública, Belém, p.101-102, 07 nov. 2001.

FREITAS, J. A.; OLIVEIRA, J. P. **Pesquisa de infecção brucélica em bovídeos abatidos portadores de bursite.** Arquivo Instituto Biológico, São Paulo, v. 72, n. 4, p.427-433, out./dez., 2005. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v72_4/freitas.PDF>. Acesso em: 16 mai. 2016.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Brucelose. In:____ **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos.** São Paulo: Livraria Varela, 2003, p. 277-282.

GODFROID, J.; CLOECKAERT, A.; LIAUTARD, J-P.; KOHLER, S.; FRETIN, D.; WALRAVENS, K.; GARIN-BASTUJI, B.; LETESSON, J-J. **Brucellosis: a re-emerging zoonosis**. Veterinary Research, Uccle, p.313-326,2005.

GORVEL, J. P.; MORENO, E. **Brucella intracellular life: from invasion to intracellular replication**. Veterinary Microbiology, Amsterdam, v. 90, n. 1-4, p. 281-297, dez. 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12414149>>. Acesso em: 16 mai. 2016.

KELLAR, J.; MARRA, R.; MARTIN, W. **Brucellosis in Ontario: a case control study**. Canadian Journal of Comparative Medicine, v. 40, p. 119-128, 1976.

KUNDA, J.; FITZPATRICK, J.; KAZWALA, R.; FRENCH Nigel. P.; SHIRIMA G.; MACMILLAN A.; KAMBARAGE, D.; BRONSVOORT, M.; CLEAVELAND, S. **Health-seeking behavior of human brucellosis cases in rural Tanzania**. BMC Public Health, Muhimbili, n. 315, p.1-7, 03 nov. 2007.

HARMON, B.G.; ADAMS, L.G.; FREY, M. **Survival of rough and smooth strains of *Brucella abortus* in bovine mammary gland macrophages**. American journal of veterinary research, Chicago, v. 49, n. 7, p.1092– 1097, jul.1988. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3138931>>. Acesso em: 16 mai. 2016.

HEYMANN, D.L. **El control de las enfermedades transmisibles**. 18. ed. Washington, D. C: OPS; 2005, p. 39-42.

Huber J.D. & Nicoletti P. 1986. **Comparison of the results of card, rivanol, complement fixation and milk ring tests with the isolation rate of *Brucella abortus* from cattle**. American Journal of Veterinary Research. v. 47, p. 7.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatística da Produção Pecuária Março de 2015**. Disponível em: <http://ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201504_publ_completa.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2016.

ITO, F.H.; VASCONCELLOS, S.A.; BERNARDI, F.; NASCIMENTO, A.A.; LABRUNA, M.B.; ARANTES, I.G. Evidência sorológica de brucelose e leptospirose e parasitismo por ixodídeos em animais silvestres do pantanal sul-mato-grossense. **Ars. Veterinária**, v.14, n.3, p.302-310, 1998.

JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Pathology of Domestic Animals**. 4. ed. v. 1. Academic Press: San Diego, 1993. p.183-439.

LAGE, A.P.; ROXO, E.; ECKERHARDT, E.; POESTER, F.P.; CAVALLÉRO, J.C.M.; FERREIRA NETO, J.S. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal**. Brasília: Ministério da Agricultura e Pecuária; 2006, 188 p.

LAGE, A.P.; POESTER, F.P.; PAIXÃO, T.A.; SILVA, T.A.; XAVIER, M.N.; MINHARRO, S.; MIRANDA, K.L.; ALVES, C. M.; MOL, J.P. S.; SANTOS, R. L. Brucelose bovina: uma atualização. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 32, p. 202-212, 2008. Disponível em:

<<http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/RB20620Lage%20vr2%20pag202-212.pdf>>. Acesso em: 16 mai. 2016.

LANGENEGGER, J.; SECCHIN, H.; BAPTISTA, A. M. Bursites brucélicas na cernelha de bovinos de abate e cuidados sanitários no matadouro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.10, p.45-49, 1975.

LAWINSKY, M.L.J.; OHARA, P.M.; ELKHOURY;M.R; FARIA,N.C.F; CAVALCANTE, K.R.L.J. **Estado da arte da brucelose em humanos**. Revista Pan-Amazônica de Saúde v.1 n.4 Ananindeua dez. 2010.

LIRA, N. S. C. **Lesões anatomopatológicas e detecção da *Brucella ovis* cepa REO 198 em ovinos inoculados experimentalmente pelas vias intraprepucial e conjuntival simultaneamente**, 2008. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, FMVZ/UNESP – Campus de Botucatu/SP, Botucatu, São Paulo. Disponível em: http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=113320.

Acesso em: 16 mai. 2016.

MACMILLAN, A. Conventional tests In: Nielsen K. & Duncan J.R. (ed.) **Animal brucellosis**. CRC Press, Boca Raton. p.153-197, 1990.

MATRONE, M.; KEID, L. B.; ROCHA, V. C. M.; VEJARANO, M. P.; IKUTA, C. Y.; RODRIGUEZ, C. A. R.; FERREIRA, F.; DIAS, R. A.; FERREIRA NETO, J. S. **Evaluation of DNA extraction protocols for *Brucella abortus* PCR detection in aborted PCR detection in aborted fetuses or calves born from cows experimentally infected with strain**. Brazilian Journal of Microbiology, São Paulo, v. 40, p. 480-489, 2009. Disponível em: http://200.144.190.38:8180/xmlui/bitstream/handle/1/341/FMVZ_VPS_ART_FERREIRA_Evaluation%20of%20DNA_09.pdf?sequence=1>. Acesso em: 16 mai. 2016.

MEGID, J.; RIBEIRO, M.G.; MARCOS JUNIOR,G. & CROCCI, A.J. 2000. **Avaliação das provas de soroaglutinação rápida, soroaglutinação lenta, antígeno acidificado tamponado e 2- mercaptoetanol no diagnóstico da brucelose bovina**. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. v. 37 n. 5.

MENDES, R.P; MARCONDES -MACHADO, J. Brucelose. In: COURA, José Rodrigues (Comp.). **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. Cap. 128, p. 1529-1538.

MINHARRO, S. **Isolamento, tipificação e genotipagem de *Brucella abortus* isoladas de bovinos no Brasil**. 2009. 77 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal – Medicina Veterinária Preventiva) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Disponível em:

<<http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/handle/1843/LGPD-7SUNFX>. >Acesso em: 16 mai. 2016.

MORENO, E.; CLOECKAERT, A.; MORIYÓN, I. ***Brucella* evolution and taxonomy**. Veterinary microbiology, Amsterdam, v. 90, n. 1-4, p. 209–227, dez. 2002.

Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12414145>>.

Acesso em: 17 mai. 2016.

NASCIMENTO NETO, F. **Roteiro para elaboração de manual de Boas Práticas de fabricação (BPF) em restaurantes**. 2ed. São Paulo: SENAC, 2005.

NETA, A. V. C.; MOL, J. P. S.; XAVIER, M. N.; PAIXAO, T. A.; LAGE, A. P.; SANTOS, R. L. **Pathogenesis of bovine brucellosis**. The Veterinary Journal, London, v. 184, n. 2; p. 146-155, sep. 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19733101>>. Acesso em: 16 mai.2016.

NICOLETTI, P. **The epidemiology of bovine brucellosis**. Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine, v. 24, p. 69 - 98,1980.

NIELSEN, K.; DUNCAN J. R. **Animal Brucellosis**. Boca Raton: CRC Press. 1990.

NIELSEN K.A **brief review of diagnosis of bovine brucellosis by detection of antibody**. Arch. Med. Vet. 27:9-17, 1995.

NIELSEN, K.; SMITH, P.; WIDDISON, J.; GALL, D.; KELLY, L.; NICOLETTI, P. **Serological relationship between cattle exposed to *Brucella abortus*, *Yersinia Enterocolitica* O:9 and *Escherichia coli* O157:H7**. Veterinary Microbiology, Amsterdam, v. 100, n. 1-2, p. 25-30, mai.2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15135510>>.

Acesso em: 16 mai. 2016.

NIMRI, L. **Diagnosis of recent and relapsed cases of human brucellosis by PCR**. BMC Infectious Disease, Jordânia, p.1-7, 28 abr. 2003.

Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2334/3/5>>.

Acesso em: 15 mai. 2011.

NOCITI, R.P. **Fatores de risco associados à brucelose em médicos veterinários com predisposição ocupacional em Mato Grosso, Brasil**. In: CONBRAVET, 2008, Gramado.

NOZAKI, C.N. **Aspectos epidemiológicos, clínicos e avaliação de métodos diagnósticos nas fases da evolução da brucelose em ovinos inoculados experimentalmente com *Brucella ovis***. 2008. 109f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Botucatu. Disponível em: <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/bbo/33004064022P3/2008/nozaki_cn_dr_botfmvz.pdf>.

Acesso em: 16 mai. 2016.

OIE. Escritório Internacional de Epizootias. **Brucelosis bovina, ovina y caprina**. Série técnica, n.6, 282p. 1987.

OIE. Escritório Internacional de Epizootias. **Manual of standards Diagnostic Tests and Vaccines. Bovine Brucellosis**. 4th edition. Chapter 2.3.1, 2000.

OIE. World Organization for Animal Health (OIE). Chapter 2.4.3. **Bovine brucellosis**. In: **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. Paris: OIE; 2009.

OIE. Escritório Internacional de Epizootias. **Diseases Notifiable to the OIE**. 2006. Disponível em: < http://www.oie.int/eng/maladies/en_classification.htm.> Acesso em: 14 mai. 2016.

OIE. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ANIMAL. **Bovine brucellosis. Terrestrial Animal Health Code**. 2013. Chapter 11.3. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/2009/en_chapitre_1.11.3.htm>. Acesso em: 16 mai.2016.

OMS. 1986. Comité Mixto FAO/OMS de expertos en brucelosis. **Organización Mundial de la Salud**, Ginebra .Sér. Inf. Téc.740:149.

OLIVEIRA, J. P. **Estudo das lesões sugestivas de brucelose em bovinos e bubalinos abatidos para consumo**. 2003. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Universidade Federal do Pará.

PAJUABA, A.C.A.M. **Avaliação de frações hidrofóbicas e hidrofílicas de *Brucella abortus* em ensaios imunoenzimáticos para caracterizar o perfil de anticorpos produzidos por bovinos vacinados e não-vacinados**. 2006. 64 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas)- Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

Disponível em: http://www.bdtu.ufu.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=502.

Acesso em: 16 mai. 2016

PAHO -PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Case Definitions: Anthrax, Brucellosis and Rabies**. Epidemiological Bulletin, Washington, p. 12-14. v. 21, n° 3, set. 2000. Disponível em: <http://www.paho.org/english/sha/be_v21n3-cover.htm>. Acesso em: 14 mai. 2016.

PAPPAS, G.; PAPADIMITRIOU, P.; AKRITIDIS, N.; CHRISTOU, L.; TSIANOS, E. V. **The new global map of human brucellosis**. The Lancet Infectious Diseases, v.6, i. 2, p. 91-99, fev. 2006. Disponível em: <[http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(06\)70382-6/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(06)70382-6/fulltext)>.

Acesso em: 16 mai. 2016.

PARDI, M.C.; ROCHA, U.F.; SALIBRA, A. ***Brucella abortus* (Bang) como causa de bursite cervical em bovinos**. Boletim da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, Rio De Janeiro, v. 24, p. 25- 34,1956.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Aspectos higiênico-sanitários da carne. Zoonoses mais comuns adquiridas profissionalmente por manipuladores de carne.** In: Ciência, higiene e tecnologia da carne, 2 ed., Goiânia: CEGRAF-UFG/ Niterói: EDUFF, 2006, p. 358-359.

PAULIN L. M.; FERREIRA NETO, J. S. **O combate à brucelose bovina. Situação brasileira.** Jaboticabal: Funep. 154p. 2003.

PESSEGUEIRO, P.; BARATA, C.; CORREIA, J. **Brucelose: uma revisão sistematizada.** Medicina Interna, 2003.

POESTER, F. P.; GONÇALVES, V. S. P.; LAGE, A. P. **Brucellosis in Brazil.** Veterinary Microbiology, Amsterdam, v. 90, p.55-62, 2002. Disponível em: <<http://cniia.inta.gov.ar/zoonosis/pdf%20Publ.y%20otr/Brucellosis%20in%20Brazi .pdf>>. Acesso em: 16 mai. 2016.

POESTER, F.P. **Manual de Zoonoses: Brucelose.** Curitiba: CRMV (PR,SC,RS), 2009a.

POESTER, F.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LOBO, J. R.; GONÇALVES, V. S. P.; LAGE, A. P.; ROXO, E.; MOTA, P. M. P. C.; MÜLLER, E. E.; FERREIRA NETO, J. S. **Estudos de prevalência da brucelose bovina no âmbito do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose: Introdução.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 61, supl. 1, p.1-5, 2009b. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a01v61s1.pdf>>. Acesso em: 16 mai. 2016.

PROBERT, W.S.; SCHRADER, K. N.; KHUONG, N. Y.; BYSTROM, S. L.; GRAVES, M. H. **Real-time multiplex PCR assay for detection of *Brucellasp.*, *B. abortus*, and *B. melitensis*.** Journal of clinical microbiology, Washington, v. 42, n. 3, p. 1290-1293, mar. 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15004098>>. Acesso em: 16 mai. 2016

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: Saunders, 2007, p.963-994.

RAY, W. C.; BROWN, R. R.; STRINGFELLOW, D. A.; SCHNURRENBERGER, P. R.; SCANLAN, C. M.; SWANN, A. I. **Bovine brucellosis: an investigation of latency in progeny of culture-positive cows.** J. Am. Vet. Med. Assoc. v.192, p.182 186, 1988.

REDKAR, R., ROSE, S., BRICKER, B., DELVECCHIO, V. **Real-time detection of *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* and *Brucella suis*.** Molecular and cellular probes, London, v. 15, n. 1, p. 43-52, fev. 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11162079>>. Acesso em: 16 mai. 2016

RIBEIRO, M.G.; NARDI JÚNIOR, G.; MEGID, J.; PAES, A. C.; LISTONI, F. J. P. **Aglutininas anti-*Brucella abortus* no soro e em secreção de bursite cervical em equinos.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 55, n. 1, fev.

2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010209352003000100015&script=sci_arttext>. Acesso em: 16 mai. 2016

RIBEIRO, M. G.; MOTTA, R. G.; ALMEIDA, C. A. S. **Brucelose equina: aspectos da doença no Brasil**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.32, n. 2, p.83-92, abr./jun. 2008. Disponível em: < www.cbra.org.br>. Acesso em: 16 mai. 2016.

RICHEY, E.J.; HARRELL, C.D. ***Brucella abortus* Disease (Brucellosis) in Beef Cattle**. Document VM-100 of a series of the Department of Large Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/vm/vm02600.pdf>> 1997. Acesso em: 15 mai. 2016.

RUIZ-MESA, J.D.; SÁNCHEZ-GONZALEZ, J.; REGUERA, J.M.; MARTÍN, L.; LOPEZ-PALMERO, S.; COLMENERO, J.D. **Rose Bengal test: diagnostic yield and use for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas**. Clinical Microbiology and Infection, 2005.

SALMAN, M. D.; MEYER, M. E. Epidemiology of bovine brucellosis in the Mexicali Valley, Mexico: Literature review of disease - associated factors. **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, p. 1557 – 1560, 1984.

SAMARTINO, L.E.; BUFFONI, L.; CONDE, S. & GREGORET, R. **Nuevas metodologías para el diagnóstico serológico de la brucelosis bovina**. Revista de Medicina Veterinária, v. 82, n.2, p. 90-94, 2000.

SCHOLZ, H. C.; HUBALEK, Z.; SEDLÁČEK, I.; VERGNAUD, G.; TOMASO, H.; AL DAHOUK, S.; MELZER, F.; KÄMPFER, P.; NEUBAUER, H.; CLOECKAERT A.; MAQUART, M.; ZYGMUNT, M. S.; WHATMORE, A. M.; FALSÉN, E.; BAHN P.; GÖLLNER, C.; PFEFFER, M.; HUBER, B.; BUSSE, H. J.; NÖCKLER, K. ***Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis***. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, Reading, v. 58, p. 375–382, 2008. Disponível em: <<http://ijs.sgmjournals.org/cgi/content/abstract/58/2/375>>. Acesso em: 16 mai. 2016.

SCHURIG, G. G.; ROOP, R. M.; BAGCHI, T.; BOYLE, S.; BUHRMAN, N.; SRIRANGANATHAN, N. **Biological properties of RB51; a stable rough strain of *Brucella abortus***. Veterinary Microbiology, v.28, p.171-188, 1991.

SERRA, J.; VIÑAS, M. **Laboratory Diagnosis of brucellosis in a rural endemic area in northeastern Spain**. International Microbiology, Tremp, v. 7, p.53-58, 2004.

STEMSHOR, B.W.; FORBES L.B.; EAGLESOM e M.D.; NIELSEN; K.H.; ROBERTSON; F.J. & SAMAGH; B.S. 1985. A comparison of standard serological tests for the diagnosis of

bovine brucellosis in Canada. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Oct. v. 49, n. 4, p.391- 394.

SILVA, J. A. As novas perspectivas para o controle sanitário dos alimentos. **Higiene Alimentar**, v.13, n.65, p.19-25, 1999.

SILVA, A. P; DEUS, M. V. C; CAVALCANTE,G.S; SILVA, K.Q. da S.K.Q; RABELO,R.A; SOUSA,M.G.F. **Produção animal e percepção sanitária de produtores em brucelose bovina no estado do Ceará**. IV SIMPOSIO DE SUSTENTABILIDADE E CIÊNCIA ANIMAL. Rio de Janeiro, agosto 2015.

SILVA, Jr. E.A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. São Paulo: Varela, 6 ed, 2005.

TAVOLARO, P.; OLIVEIRA, C. A. F. Evaluation of a GMP training of milkers in small dairy goat farms in São Paulo, Brazil. **International Journal of Environmental Health Research**, n. 16, p. 81-88, 2006.

TAVOLARO, P; BICUDO, P. I. M. T; PELICIONI, M. C. F; OLIVEIRA, C. A. F. *Empowerment* como forma de prevenção de problemas de saúde em trabalhadores de abatedouros. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 2, p. 307-312, 2007.

TIMONEY, J. F.; GILLESPIE, J. H.; SCOTT, F. W.; BARLOUGH, J. E. **Microbiology and Infectious Diseases of domestic Animals**. Comstock Publishing Associates, London; p.135-152, 1988.

TOCANTINS. Secretaria de Saúde. **Protocolo de Atenção e Vigilância à Saúde para Pacientes com Brucelose Humana Código CID –10: A23**. Palmas, 2010.

VASCONCELLOS, S.A.; ITO, F.H. & CORTES, J.A. **Bases para prevenção da brucelose bovina**. Comunidade Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, São Paulo, 1987.

VELASCO, J.; BENGOCHEA, J. A.; BRANDENBURG, K.; LINDNER, B.; SEYDEL, U.; GONZALEZ, D.; ZÄHRINGER, U.; MORENO, E.; MORIYÓN, I. **Brucella abortus and its closest phylogenetic relative Ochrobactrum spp, differ in outer membrane permeability and cationic peptide resistance**. Infection and Immunity, Washington, v. 68, n. 6, p. 3210–3218, 2000. Disponível em:< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10816465>>. Acesso: 16 mai. 2016.

VERONESI, R. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 8ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 1082 p.

VIANA, L.; BAPTISTA, F.; TELES, J. RIBEIRO, A. P. C.; PIGATTO, C. P. Soropositividade e lesões sugestivas de brucelose em bovinos abatidos no estado de

Tocantins, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.3, p.517-520, jul./set., 2010. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v77_3/viana.pdf>. Acesso em: 16 mai. 2016

XAVIER, M. N. **Desenvolvimento de PCR espécie-específico para o diagnóstico da infecção por *Brucella ovis* e avaliação comparativa de métodos sorológico**. 2009. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/1843/SSLA7YSH6J/1/disserta__o_mnx_final.pdf>. Acesso em: 16 mai.2016.

WAHID. World Organisation for Animal Health (OIE), 2010. **World Animal Health Information Database** - Version: 1.4. Disponível em:<<http://web.oie.int/wahis/public.php?page=home>>. Acesso em: 16 mai. 2016.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION (Ed.). **Operational Research in Tropical and other communicable diseases: Final report summaries 2001-2002**.Cairo, 2004, 117p.

ZINSSTAG, J.; SCHELING, E.;ROTH, F.; BONFOH, B.; SAVIGNY D. de; TANNER M. **Human Benefits of Animal Interventions for Zoonosis Control**. Emerging Infectious Disease, Basel, v. 13, n. 4, p.527-531, abr. 2007. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/eid>>. Acesso em 15 mai. 2016.

CAPÍTULO 3: Artigo Científico

Original

Ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no município de São Luís - MA

Brucella abortus occurrence in meatpacking workers in São Luís - MA

Renata Stefany Bitencourt CAVALCANTE¹, Thaliane França COSTA¹, Luís Gustavo Siqueira Matias RAMOS¹, Priscila Alencar BESSERA¹, Hilmanara Tavares da SILVA¹, Nancyleni Pinto CHAVES^{1*}.

*Endereço para Correspondência: ¹Curso de Medicina, Departamento de Patologia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Cidade Universitária Paulo VI, Cx. Postal 9, Tirical, CEP 65055-970, São Luís, MA, Brasil, Tel.: (98) 3244-6728, *E-mail: nancylenichaves@hotmail.com

RESUMO

O objetivo do estudo foi determinar a ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no Município de São Luís – MA. Para isso, foram selecionados 75 funcionários ligados diretamente a atividade de abate de bovinos. A coleta das amostras de sangue foi realizada pela punção da veia cefálica, conduzida por um profissional da saúde. Após a coleta, cada trabalhador respondeu a um questionário epidemiológico para estudar possíveis fatores de risco associados à brucelose nesses profissionais. O diagnóstico sorológico para detecção de anticorpos anti-*Brucella abortus* foi realizado pelo Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), como teste de triagem, e as amostras reagentes nesse, foram submetidas simultaneamente ao 2-Mercaptoetanol e Soroaglutinação lenta em Tubos. Apenas um trabalhador (1,34%) foi reagente para *B. abortus* no estudo. Dentre os fatores de risco

avaliados, nenhum apresentou significância estatística ($P < 0,05$) associada à brucelose. Desta forma, pode-se concluir que a ocorrência de *B. abortus* em trabalhadores de frigoríficos municipais no Município de São Luís – MA foi baixa. Contudo, como a brucelose é endêmica em rebanhos bovinos no Estado do Maranhão e diante da dinâmica do trabalho executado nesses locais é grande a possibilidade desses profissionais se infectarem, sobretudo, pela não utilização de EPI's.

Palavras-chave: Brucelose, frigoríficos, trabalhadores, zoonoses.

ABSTRACT

The aim of the study was to determine the occurrence of *Brucella abortus* in meatpacking workers in São Luis - MA. For this, we selected 75 employees linked directly to cattle slaughtering activity. The collection of blood samples was performed by puncturing the cephalic vein, conducted by a health professional. After collection, each worker answered an epidemiological questionnaire to study possible risk factors associated with brucellosis in these professionals. Serological diagnosis to detect anti-*Brucella abortus* antibodies was performed by antigen buffered plate (AAT), as a screening test, reagents and samples that were subjected simultaneously to the 2-Mercaptoethanol and slow agglutination test tubes. Only one worker (1.34%) was positive for *B. abortus* in the study. Among the risk factors evaluated, no statistically significant ($P < 0.05$) associated with brucellosis. Thus, it can be concluded that the occurrence of *B. abortus* in municipal slaughterhouses workers in São Luís - MA was low. However, as brucellosis is endemic in cattle herds in the state of Maranhao and on labor dynamics run these places is great possibility of these professionals become infected mainly by non-use of PPE.

Keywords: Brucellosis, Slaughterhouse, workers, zoonosis.

INTRODUÇÃO

As zoonoses constituem grave problema de saúde pública no mundo. Dados divulgados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) indicam que 75% das doenças infecciosas que acometem os humanos são de origem animal¹. A transmissão destas doenças em frigoríficos pode ocorrer por manipulação de carcaça animal e de vísceras contaminadas, além do contato com sangue, urina, fezes e material perfuro-cortante durante as diferentes etapas no fluxograma de abate².

Estima-se que 60% dos patógenos que atingem o homem são de origem zoonótica e que 80% dos patógenos animais têm múltiplos hospedeiros³. A disseminação dessas zoonoses está diretamente relacionada com a capacidade do agente etiológico em manter-se em condições viáveis nas fontes de infecções⁴.

Nos frigoríficos, a inspeção *post-mortem* é fundamental para a identificação de lesões sugestivas de doenças, inclusive as zoonóticas, e a aplicação de medidas preventivas evitaria a disseminação de agentes patogênicos entre os trabalhadores do local^{5,6}.

Em se tratando de zoonoses, a brucelose é uma das principais. Essa enfermidade é causada por micro-organismos do gênero *Brucella*, que são bactérias intracelulares facultativas do tipo cocobacilos gram-negativos imóveis que infectam células do sistema mononuclear fagocitário⁷.

No Brasil, é grande a preocupação com a brucelose, seja relacionada à saúde animal, ao risco que apresenta para a saúde pública, e ainda, em virtude do tamanho e distribuição do rebanho brasileiro, associado, ainda, endemicidade da infecção. Nos bovinos, a doença, provoca perdas diretas em decorrência da diminuição de índices reprodutivos, como, abortamentos, aumento do intervalo entre partos, decréscimo na produção de leite e

carne e óbito de bezerros⁸. Em se tratando de brucelose humana, a maioria dos casos no país está associada à espécie *Brucella abortus*⁹.

É crescente o aumento do número de abatedouros clandestinos ou com fiscalização inadequada, o que, por sua vez, incrementa o risco de transmissão de zoonoses ocupacionais para os trabalhadores desses estabelecimentos⁴.

Nesse contexto, realizou-se este estudo com o objetivo de determinar a ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos com Serviço de Inspeção Municipal (SIM) no Município de São Luís – MA.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo possui um desenho descritivo com uma abordagem quantitativa. O universo dessa pesquisa foi composto por funcionários, ambos os sexos (69 do sexo masculino e 6 do sexo feminino), de três frigoríficos destinados ao abate de bovídeos localizados no Município de São Luís – MA, que concordaram em participar deste estudo mediante a prévia assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

Foram selecionados funcionários envolvidos diretamente no fluxograma de abate de bovinos (recepção, condução dos animais a sala de abate, insensibilização, sangria, esfolagem, evisceração, serragem de carcaças, divisão em quartos, inspeção de vísceras e carcaças, toalete, pesagem e carimbagem de carcaças e limpeza de vísceras brancas), sendo 25 funcionários por frigorífico, totalizando um universo amostral de 75 trabalhadores.

Cada trabalhador participante respondeu a um questionário de identificação com o número de ordem, e dados pessoais: (i) nome, (ii) bairro, (iii) idade, (iv) grau de escolaridade e, (v) data da coleta do material biológico. A ficha continha também questões relacionadas ao hábito de higiene no local de trabalho, higiene pessoal, medidas de biossegurança empregadas, bem como o conhecimento sobre as doenças zoonóticas, com foco na brucelose.

A coleta das amostras de sangue foi realizada pela punção da veia cefálica, conduzida por um profissional da saúde, devidamente equipado e orientado pelo serviço médico da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA). As amostras sanguíneas foram colhidas em tubos tipo Vacutainer devidamente identificados. No Laboratório de Diagnóstico de Doenças Infecciosas da UEMA, foram centrifugadas a 2.500 x g, por quinze minutos para obtenção do soro e mantidos a -20° C até a realização dos testes sorológicos. As normas de biossegurança foram rigorosamente seguidas, em todas as etapas, para garantir a qualidade da pesquisa e dos resultados laboratoriais. Este trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do UNICEUMA, ligado à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP),

O diagnóstico sorológico para detecção de anticorpos anti-*Brucella abortus* foi realizado em série da seguinte forma:

- (i) O Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) produzido pelo TECPAR foi empregado como teste de triagem.
- (ii) As amostras reagentes no AAT foram submetidas simultaneamente ao 2-Mercaptoetanol e Soroaglutinação Lenta em Tubos utilizando antígeno produzido pelo TECPAR, nas titulações de 1:25, 1:50, 1:100 e 1:200.

As informações dos questionários, assim como o resultado do diagnóstico laboratorial foram armazenadas em um banco de dados utilizando o programa Microsoft Access®. Para o cálculo da ocorrência de *B. abortus* em funcionários de frigoríficos, empregou-se análise estatística descritiva por meio de distribuições absoluta e relativa. Para o estudo dos fatores de risco foi utilizada estatística por meio do teste Exato de Fisher ou, teste Quiquadrado de independência, quando as condições para o teste Exato de Fischer não foram verificadas. O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5% (0,05) e foram utilizados intervalos com confiabilidade de 95%. O programa utilizado para a obtenção da análise foi o Instat 2.0 versão 2003 e o EpInfo 3.43 versão 2007.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 75 amostras séricas examinadas, uma (1,34%) foi reagente no teste de triagem (AAT). Esta foi confirmada por meio dos testes de SAL e 2-ME na diluição 1:50. Logo, a ocorrência da brucelose humana em frigoríficos municipais no Município de São Luís – MA, foi de 1,34%.

O resultado do presente estudo é inferior ao encontrado por Figueiredo et al.¹⁰ que encontraram 4,20% de amostras positivas quando avaliaram 1.183 trabalhadores de frigoríficos de Belo Horizonte - MG. Estudos realizados em outras categorias profissionais pelo Brasil evidenciam resultados maiores ou menores, mas, de maneira geral mostram a brucelose como doença de caráter ocupacional. Nessa perspectiva é pertinente citar alguns, entre eles o de Garcia et al.¹¹ que não encontraram resultados positivos ao avaliar 115 amostras de soros de moradores da área rural de Guaraci, no Estado do Paraná e de Miyashiro et al.¹² em São Paulo – SP que relataram a ocorrência da brucelose, por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) em uma amostra de fazendeiro que residia na zona rural do Estado.

Em estudo anterior realizado em um dos frigoríficos dessa pesquisa, Santos et al.¹³ analisaram amostras séricas (n= 419) e bursites (n= 25) de bovinos abatidos, além de amostras sanguíneas de humanos (n= 59). Os pesquisadores identificaram 25 animais (5,97%) soropositivos. Das amostras de bursite, a *B. abortus* foi confirmada por isolamento bacteriano em 28% (n=7/25). Seis amostras humanas foram positivas nos testes confirmatórios.

Sobre o tempo de serviço, o funcionário reagente relatou trabalhar formalmente há oito meses no frigorífico, executando suas atividades no setor de abate (esfola). Contudo, os frigoríficos municipais na Cidade de São Luís- MA configuram como pontos de absorção de

mão-de-obra local, seja na forma legalizada ou não. Sendo relatado pelos trabalhadores amostrados, o desempenho de atividades informais por anos nesses locais.

Estudos realizados sobre essa mesma temática no Brasil, evidenciam maiores taxas de prevalências em trabalhadores que exercem a atividade por mais de cinco anos consecutivos. E referente à atividade executada, os estudos mostram que àquelas diretamente relacionadas ao abate são as que mostram maiores taxas de positividade, o que corrobora com a presente pesquisa ^{14,13}.

Botelho et al. ¹⁵ relatam que amostras humanas com titulações a partir de 1:100 são sugestivas de infecção pela *B. abortus*. Já, títulos entre 1:25 e 1:50 podem ser representativos de reações inespecíficas ou significar títulos residuais de infecções passadas e inaparentes. Apesar da baixa titulação apresentada pelo trabalhador reagente (1:50), resultados de estudos anteriores sobre brucelose em humanos ¹³ e bovinos ^{16,13} realizados nesses frigoríficos e que mostram positividade para a doença em questão reforçam a hipótese de infecção no referido trabalhador.

A brucelose é considerada doença ocupacional, estando associada a determinados grupos profissionais, como magarefes, veterinários e laboratoristas ^{17,18,19}. A ocorrência de *Brucella abortus* no estudo, fundamentado ainda por informações dos trabalhadores, visualização *in locu* e nos resultados do estudo de Coelho et al. ²⁰ mostram que as atividades de abate de bovinos nos três frigoríficos são realizadas sem uso de equipamentos de proteção individual (EPI's) e que um elevado número de animais são abatidos por dia e em ritmo acelerado. Tais fatos determinam contato íntimo entre secreções, sangue e vísceras o que reforçam ainda mais a possibilidade de ocorrência de brucelose nessa categoria de profissionais. Dessa forma, independente a função desempenhada pelos trabalhadores, o risco de contaminação com agentes de doenças zoonóticas é grande e preocupante.

Os resultados do estudo de Santos et al.¹³ e Prazeres et al.²¹, ambos realizados no Estado do Maranhão, sugerem que apesar de um conjunto de ações sanitárias oficiais conduzidas ao longo das últimas décadas no Estado do Maranhão, a brucelose bovina, ainda, é problema comum, preocupante e endêmico. Adicionalmente, observa-se que o comportamento epidemiológico da brucelose no Estado não difere daquele encontrado nacional e internacionalmente, onde se tem uma maior relevância da enfermidade em relação à unidade epidemiológica de rebanho quando comparada ao animal, devido ao baixo potencial de disseminação da enfermidade.

Nenhuma das variáveis, referente ao ambiente de trabalho evidenciou significância estatística ($P > 0,05$) associada ao risco de ocorrência de brucelose (Tabela 1).

Nessa pesquisa, a maioria dos trabalhadores ($n=68$; 91%) relatou conhecer a brucelose e sua forma de transmissão ($n=50$; 67%). Outro dado importante é a grande quantidade de funcionários que já participou de cursos de capacitação na área de alimentos ($n=42$; 56). Contudo, a maioria destes ($n=73$; 97%) não faz o uso dos EPI's, seja por descaso ou por não serem oferecidas pelos proprietários dos frigoríficos.

Com base nos resultados, adverte-se para a necessidade imediata dos responsáveis por estes estabelecimentos adotarem a realização periódica de exames médicos e laboratoriais bem como capacitá-los, a fim de que o risco de infecção pela *B. abortus* e outros agentes zoonóticos seja reduzido ao menor índice possível.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa, considerando a análise e interpretação dos aspectos sanitários da brucelose, permitiram concluir que a ocorrência dessa enfermidade em trabalhadores de frigoríficos municipais no Município de São Luís – MA foi baixa. Contudo, como a brucelose é endêmica em rebanhos bovinos no Estado do Maranhão e diante da

dinâmica do trabalho executado nesses locais é grande a possibilidade desses profissionais se infectarem, sobretudo, pela não utilização de EPI's.

Como sugestões para a redução do risco de agentes zoonóticos nesta categoria de profissionais recomendam-se, além do aumento da fiscalização nos frigoríficos, a realização de exames periódicos e capacitação sobre BPF e manipulação de alimentos, além de propiciar condições adequadas para que os manipuladores de alimentos possam desenvolver suas atividades em um ambiente higiênico e seguro.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA) pelo suporte financeiro para a realização desse trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Who - World Health Organization (Ed.). Operational Research in Tropical and other communicable diseases: Final report summaries 2001-2002. Cairo, 2004. 117p.
2. Tavolaro, P. Bicudo PIMT, Pelicioni MCF, Oliveira CAF. Empowerment como forma de prevenção de problemas de saúde em trabalhadores de abatedouros. Revista de Saúde Pública, 2007; 41(2):307-12.
3. Cutler SJ, Fooks AR, Poel WHM. Public health threat of new, reemerging, and neglected zoonoses in the industrialized world. Emerging Infectious Diseases, 2010;16(1):1-7.
4. Viana FJC, Franklin FLAA, Pereira CF de C, Lima DBC, Junior AMC. , Rizzo M dos S.

Abate clandestino de suínos e pequenos ruminantes na cidade de Teresina, Piauí: implicações na saúde ocupacional. Revista do Instituto de Ciências e Saúde, Teresina, 2014;1(1):38-47.

5. Germano MIS et al. Manipuladores de alimentos: Capacitar? É preciso. Regular? Será Preciso? Revista Higiene Alimentar, 2000;14(78/79):18-22.

6. Dias ICL. Prevenção de zoonoses ocupacionais em abatedouros de Bovinos. Revista Vivências, 2012;8(15):89-98.

7. Silva NS. Estudo das vacinas contra brucelose bovina: revisão [dissertação de mestrado] 2012. 61f. São Paulo: Universidade de São Paulo. Disponível em: < <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10134/tde-01072013-170508/pt-br.php> >. Acesso em: 15 nov.2013.

8. Olinto FA, Azevedo SS, Júnior JRS. Brucelose Bovina na Microrregião de Pau dos Ferros, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. Mossoró – Rio Grande do Norte, v. 7, n. 5, p. 20-23, ISSN 1981-8203, dezembro de 2012. Disponível em: < <http://revista.gvaa.com.br> >. Acesso em: 12 mai. 2016.

9. Cardoso SCT, Costa LMC. A Brucelose no Brasil sob o Enfoque da Saúde Pública. 2012. Disponível em: <<http://www.cpgls.ucg.br/7mostra/Artigos/SAUDE%20E%20BIOLOGICAS/A%20BRUCLOSE%20NO%20BRASIL%20SOB%20O%20ENFOQUE%20DA%20SA%20P%C3%9ABLICA-TCC-revista%20PUC%5B1%5D.pdf>>. Acesso em: 10 mai. 2016.

10. Figueiredo BL. Brucelose como doença ocupacional. Aglutininas anti *Brucella sp.* em grupos ocupacionais dos frigoríficos da grande Belo Horizonte. Arquivo Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia, 1985;37:385-407.
11. Garcia JL, Navarro IT. Avaliação sorológica da leptospirose e brucelose em pacientes moradores da área rural do município de Guaraci, Paraná, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2001;34(3).
12. Miyashiro S, Scarelli E, Campos FR, Dezen EL, Araújo MRE, Genovez ME. Discite em humano com brucelose: Confirmação e identificação da espécie por meio da reação de polimerização em cadeia (PCR). 16ª reunião Anual do Instituto Biológico, v.70, supl. 3, 2003.
13. Santos HP, Teixeira WC, Oliveira MMM, Pereira Helder de M, Oliveira RA de, Negreiros RC, Soares Filho PMS, Santana SSS5, Castro RS de. Brucelose Bovina e Humana Diagnosticada em Matadouro Municipal de São Luís-MA. Ciência Veterinária nos Trópicos, Recife-PE, 10(2/3): 86 - 94 - maio/dezembro, 2007.
14. Spinola AG, Costa MDM. Brucelose humana em operários de um frigorífico no município de Salvador, Bahia, Brasil. Revista de Saúde Pública, São Paulo, 1972;6(2):157-165,1972.
15. Botelho AP, Mota RA, Silva LBG. et al. Recuperação de *Brucella abortus* do leite in natura procedente de vacas soropositivas dos municípios de Pedra e Venturosa – PE. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, 2000;14(73);72-77.

16. Lopes CP de M. Pesquisa de bursite cervical em bovinos com brucelose diagnosticada em matadouro sob inspeção municipal – Frigorífico J.B [monografia]. 2003, 42p. São Luís: Universidade Estadual do Maranhão. 2003.
17. Barbuddhe SB, Kumar P , Malika, S.V. et al. Seropositivity for intracellular bacterial infection among abattoir associated personnels. *Journal of Communicable Diseases*, New Delhi, 2000;32(4):295-299.
18. Memish Z, Balkhy H. Brucellosis and International Travel. *Journal of Travel Medicine*, 2004;11(1):49-55.
19. Berkelman RL. Human illness associated with use of veterinary vaccines. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, 2003;37(3):407-424.
20. Coelho ELM, Chaves NP, Sá JC de, Melo S de A, Silva A LA Silva. Prevalência de leptospirose em fêmeas bovinas abatidas em frigoríficos no município de São Luís, MA. *Revista Brasileira Medicina Veterinária*. 2014;36(2).111-115.
21. Prazeres MPC, Chaves NP, Santos AM, Carvalho-Neta AV; Abreu-Silva AL. Prevalency and Risk Factors Associated with Brucellosis in Cattle in the Municipality of São Francisco do Brejão, Maranhão, Brazil. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 2014;3(2).

A Tabela

Tabela 1. Fatores de risco associados à brucelose em trabalhadores de frigoríficos municipais no Município de São Luís - MA

Variáveis		Brucelose						OR	IC 95%	Valor de P
		Reagente		Não Reagente		Total				
		N	%	N	%	N	%			
Conhecimento sobre doenças transmitidas por animais	Sim	1	1	40	53	41	55	2,556	0,100;64,827	1,000
	Não	0	0	34	45	34	45			
A empresa realiza exames periódicos	Sim	0	0	63	84	63	84	0,060	0,002;1,576	0,160
	Não	1	1	11	15	12	16			
Trabalha com lesões no corpo	Sim	1	1	34	45	35	47	3,522	0,138;89,337	0,466
	Não	0	0	40	53	40	53			
Tem contato com materiais biológicos	Sim	1	1	73	97	74	99	16,333	0,452;589,800	1,000
	Não	0	0	1	1	1	1			
Utiliza EPI	Sim	0	0	1	1	1	1	16,333	0,452;589,800	1,000
	Não	1	1	73	97	74	99			
Já ouviu falar de brucelose	Sim	1	1	68	91	69	92	0,284	0,010;7,726	1,000
	Não	0	0	6	8	6	8			
Sabe como a brucelose é transmitida	Sim	0	0	50	67	50	67	0,161	0,006;4,119	0,333
	Não	1	1	24	32	25	33			
Conhece alguém que já teve brucelose	Sim	0	0	16	21	16	21	1,182	0,045;30,410	1,000
	Não	1	1	58	77	59	79			
Participou de algum curso de capacitação na área de alimentos	Sim	0	0	42	56	42	56	0,010;6,469	0,010;6,469	0,440
	Não	1	1	32	43	33	44			

Onde: OR= Razão de chances; IC 95%= Intervalo de confiabilidade ao nível de 95%; * Significância ao nível de 5%.

CAPÍTULO 4: Considerações Finais

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com este estudo foi possível perceber a dificuldade do diagnóstico clínico da brucelose humana, pois muitas vezes os sintomas são inespecíficos fazendo com que a pessoa confunda com outras doenças, portanto, é preciso realizar uma anamnese detalhada e exames laboratoriais detalhados para o diagnóstico definitivo da doença e desta forma fazer o tratamento adequado para cada caso.

Para o controle da brucelose humana é preciso adotar medidas de prevenção principalmente para funcionários de matadouros onde o contato destes com materiais contaminantes é muito grande. Então como medida de prevenção deve-se orientar estes trabalhadores a terem cuidado ao manipular possíveis animais e carcaças contaminadas e também ficar atento à formação de aerossóis; evitar limpar e lavar os ambientes frequentados pelos animais com jatos de ar ou de água com alta pressão para diminuir o risco de formação de aerossóis; estimular o uso de equipamentos de proteção individual; evitar que funcionários doentes ou com machucados pelo corpo entrem no ambiente de serviços; estimular a participação dos funcionários em cursos ou palestras que abordem assuntos como higiene e manipulação adequada de alimentos; estimular o diálogo pois sabendo dos riscos que correm certamente iram tomar medidas adequadas de prevenção para evitar a doença.

Com isto a identificação e a compreensão dos riscos a que estão sujeitos os profissionais de matadouros-frigoríficos é de fundamental relevância para a saúde o destes profissionais, tornando-se o passo inicial para resolvê-los e com isso ocorrerá redução dos custos associados ao absenteísmo e ao tratamento dos trabalhadores que adoecem. Portanto, a melhoria das condições de saúde ocupacional em matadouro é um desafio difícil, onde ações educativas, informativas que abordem o cotidiano destes trabalhadores preventivas e que envolvam todos os envolvidos na linha de produção jamais devem ser consideradas como desnecessária para a diminuição de ocorrência de doenças ocupacionais e diminuição de prejuízos por parte da empresa.

Apêndices

APÊNDICE 1- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Instrumento de Pesquisa/Questionário

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa “**Ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no Município de São Luís - MA**”, que integra um projeto maior intitulado “Ocorrência de agentes zoonóticos ocupacionais em trabalhadores de frigoríficos no Município de São Luís – MA”. Essa pesquisa é desenvolvida por Renata Stefany Bitencourt Cavalcante, aluna do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA que tem por objetivo “Determinar a ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no Município de São Luís – MA.

Sua participação é voluntária e será efetuada por meio de coleta de três (03) mL de sangue, da veia cefálica por um profissional da saúde, em tubos de vidro devidamente identificados e um inquérito investigativo, contendo questões que venham ajudar a desenvolver a pesquisa.

O material coletado será utilizado apenas para essa pesquisa, caso haja sobra, será devidamente descartado. Não haverá riscos, nem qualquer dano físico, moral ou financeiro. Sua identidade será mantida em sigilo, podendo recusar-se a participar ou responder a qualquer pergunta sem prejuízo ou penalização, como também se desligar em qualquer etapa do estudo, em caso de discordância. Poderá solicitar esclarecimentos quando sentir necessidade, podendo interromper as atividades a qualquer momento da pesquisa. Espera-se que o estudo traga informações importantes sobre a brucelose em trabalhadores de frigoríficos no Município de São Luís – MA e possa contribuir para a adoção de medidas de controle mais eficazes, já que a doença tem caráter ocupacional e constitui-se em sério risco à saúde pública. Sua participação é muito importante para que os objetivos sejam alcançados e todo resultado obtido será respeitosamente utilizado para fins científicos da pesquisa proposta.

Sujeito do estudo ou representante legal

Pesquisador (a)

APÊNDICE 2- QUESTIONÁRIO

I. Aspectos Demográficos:

1. Frigorífico: _____ 1.1 Data da coleta: ____/____/____
2. Nome: _____ 3. Idade: _____ 4. Sexo: () M () F
5. Id da amostra: _____
6. End: _____ nº _____
7. Bairro: _____ 8. Zona de moradia: () Rural () Urbana
9. Escolaridade: () Analfabeto () Fundamental incompleto () Fundamental completo
() Médio incompleto () Médio completo () Superior incompleto () Superior completo _____
10. Quantas pessoas moram na casa com você: _____
11. De quanto é a renda mensal da família _____ reais
12. Onde morava nos últimos 4 meses: () na mesma casa () em outro bairro ou sítio () em outra cidade () em outro estado.
13. Escuta barulho de rato pelo telhado de casa durante a noite: () sim () não
14. Para onde vão os dejetos da casa: () fossa () corre a céu aberto () esgoto () outros _____
15. Existe entulho ao redor da casa: () sim () não
16. O que você faz com o lixo: () queima () a prefeitura recolhe () joga em terrenos baldios () outros _____
17. Cria algum tipo de animal na casa ou no terreno? () sim () não
- 17.1 Se sim, qual: () galinha () porco () boi ou vaca () cachorro () gato () carneiro ou ovelha () bode ou cabra () outros _____
- 17.2 O animal tem contato com outros animais? () sim () não
- 17.3 No caso do gato, onde o animal defeca? () casa () quintal () caixa de areia
- 17.4 O animal tem contato com: () hortas () jardins () lixo () terrenos baldios () áreas alagadiças
- 17.5 O animal já esteve doente? () sim () não
- 17.6 Se sim, qual o sintoma apresentado durante a doença? _____
- 17.7 Você quem cuida do animal? () sim () não
18. Observou se nos últimos 7 meses houve casos de abortamento entre os animais: () sim () não
- 18.1 Qual animal _____
19. Sua casa fica próximo a algum () rio () açude () córrego () lago ou barragem
- 19.1 Há quantos metros _____
20. A água utilizada nos últimos 7 meses vem de onde: () abastecimento público () açude () caixa d'água () cacimba () poço () outros _____
21. Costuma tomar banho em: () rio () açude () lagoa () barragem
- 21.1 Com que frequência () toda semana () de vez em quando
- 21.2 Se de vez em quando, em qual mês (período) _____

22. Tem atividades relacionadas à manipulação de terra? () sim () não
23. Alimentação () carne crua/mal passada () leite cru () queijo fresco
- 23.1 Costuma lavar frutas, legumes e hortaliças antes de comê-los? () sim () não
24. Tem conhecimento de doenças transmitidas por animais? () sim () não
- Qual? _____

II. Exposições no Local de Trabalho

1. Data de ingresso no frigorífico: _____
2. Qual sua atividade no frigorífico: _____
4. Quantas horas por dia trabalha no frigorífico: _____
5. Entra contato direto com que material (is) biológico (s): () sangue; () vísceras; () fezes; () urina; () secreções vaginais ou uterinas; () restos placentários, líquidos e fetos de animais.
6. Já trabalhou ou trabalha com algum tipo de corte ou machucado no corpo quando trabalhou nessa fase: () sim () não
8. Onde guarda seu material de trabalho () em casa () no frigorífico
9. Se no frigorífico, em qual local _____
10. A empresa realiza exames médicos e laboratoriais periódicos ou de mudança de função? () sim () não 10.1 Quais? _____
12. Participa ou já participou de algum programa de capacitação profissional relacionado à higiene pessoal e à manipulação de alimentos? () sim () não
13. Utiliza equipamentos de proteção individual? () sim () não

III. Sobre a Brucelose

1. Já ouviu falar sobre Brucelose: () Sim () Não
2. Sabe como essa doença é transmitida: () Sim () Não
- 2.1 Se sim, como? _____
3. Conhece alguém que já teve Brucelose: () Sim () Não
4. E você já ficou doente por Brucelose: () Sim () Não
5. Se sim, o que sentiu: () febre () dor de cabeça () dor no corpo () diarreia () tremedeira/frio () dor na barriga () dor nos olhos () olhos vermelhos () olhos amarelos () dor nos joelhos () dor na batata da perna () dor nas costas () urina alaranjada () sangue pelo nariz () tosse com sangue () enjôo () vômito () outros _____
6. Quantos dias ficou doente? _____
7. Procurou serviço de saúde? () sim () não
8. Quantas vezes? _____
9. Demorou quantos dias para procurar o serviço? _____
10. O que o médico disse que o senhor tinha? _____
11. Ficou internado? () sim () não
- 11.1 Se sim, por quantos dias? _____
- 11.2 Quantos dias ficou sem trabalhar por conta da doença? _____

Anexo

ANEXO 1- Normas da Revista do Instituto Adolfo Lutz (RIAL)

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A Revista do Instituto Adolfo Lutz (RIAL), iniciada em 1941, é uma publicação trimestral com a missão de divulgar resultados de investigações científicas relacionadas às ações de promoção à saúde, prevenção e controle de agravos e doenças de interesse em saúde pública, além de incentivar a produção de artigos científicos nas áreas de vigilância epidemiológica e sanitária e de proporcionar a atualização e aprimoramento de profissionais da área em âmbito nacional e internacional.

A RIAL é inter e multidisciplinar, arbitrada, aberta a contribuições de autores nacionais e estrangeiros. Publica prioritariamente pesquisas originais com contribuições relevantes na área laboratorial em saúde pública, realizadas com rigor científico e que possam ser replicadas e generalizadas.

Política Editorial

Editada nos formatos impresso e eletrônico, a RIAL tem interesse por trabalhos originais em todas as áreas laboratoriais em saúde pública. São também publicadas outras contribuições inéditas, desde que sobre temas atuais e importantes – revisões de literatura, comunicações breves e notas científicas – além de resumos de teses e dissertações.

Os manuscritos devem destinar-se exclusivamente à RIAL, não sendo permitida sua apresentação simultânea a outro periódico. As contribuições podem ser apresentadas em português ou inglês.

Os manuscritos submetidos são analisados inicialmente pelos editores quanto ao atendimento aos padrões da RIAL e às normas para o envio dos originais. Aqueles manuscritos selecionados são encaminhados para avaliação por pares externos de área pertinente, sempre de instituições distintas àquela da origem do manuscrito, sendo garantido o anonimato e a confidencialidade durante todo o processo de avaliação. Após receber os pareceres, o Corpo Editorial, que detém a decisão final sobre a publicação ou não do texto, avalia a aceitação do texto sem modificações, a recusa ou a devolução ao autor com as sugestões apontadas pelos relatores.

Os manuscritos submetidos devem atender à política editorial da RIAL e às Instruções aos Autores, que seguem os *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication* (<http://www.icmje.org>), além dos critérios éticos da pesquisa humana e animal.

Os autores devem explicitar em MÉTODOS que a pesquisa foi conduzida dentro dos padrões exigidos pela Resolução 466 de 12 de dezembro de 2012 do Ministério da Saúde – Conselho Nacional da Saúde, em caso de ética humana, e pela Lei Federal 11.794 de 08 de outubro de 2008, pela Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos - DBCA de 2013 e pelas Resoluções Normativas N° 12, N° 13 e N° 14 no caso de experimentação animal. A pesquisa deverá ser aprovada por comissão de ética humana (CEP) reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) – vinculada ao Conselho Nacional de Saúde (CNS), bem como registro dos estudos de ensaios clínicos em base de dados, conforme recomendação aos editores da Lilacs e Scielo, disponíveis em: <http://bvsmodeo.bvsalud.org/site/lilacs/homepage.htm>. No caso de experimentação animal o projeto deverá ser aprovado por Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) reconhecida pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal do Ministério de Ciência e Tecnologia e Inovação (CONCEA). O nome da base de dados, sigla e/ou número do ensaio clínico, assim como o número do processo e o nome da comissão de ética que aprovou o projeto, deverão ser colocados ao final do RESUMO. Nos casos de ensaios envolvendo

animais, estes deverão atender a Lei Federal 9605 contra crimes ambientais, a Lei federal 6638/76 e a Lei 11.794/08, que normatiza a utilização de animais em pesquisa científica. Os autores deverão ter em seu poder todos os documentos referentes a este procedimento, que poderão ser solicitados em qualquer momento pelos editores. Os autores serão responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros, de interesse comercial e/ou associativo, relacionados ao material de trabalho ou outros que possam influenciá-los, apresentando uma declaração sobre a existência ou não de tais conflitos. Os relatores também devem revelar aos editores qualquer conflito que possa influir ou impedir as suas avaliações. Os manuscritos publicados são de propriedade da RIAL. A transferência de direitos autorais será solicitada após a aprovação do manuscrito para publicação.

Informações Gerais

Os manuscritos submetidos à publicação na RIAL devem ser apresentados de acordo com as Instruções aos Autores.

São aceitos manuscritos nos idiomas: português e inglês.

O manuscrito deve ser encaminhado em formato eletrônico (e-mail) ou impresso, aos cuidados do editor-chefe da RIAL, no seguinte endereço:

Revista do Instituto Adolfo Lutz (RIAL)

Núcleo de Acervo

Av. Dr. Arnaldo, 355 - Cerqueira César - São Paulo - SP - Brasil - CEP: 01246-902 Ou por meio eletrônico em rial@saude.sp.gov.br

Pormenores sobre os itens exigidos para apresentação do manuscrito estão descritos a seguir.

1. Categoria De Artigos

1.1 Artigos Originais: Incluem estudos relacionados à prevenção e controle de agravos e à promoção à saúde. Devem ser baseados em novos dados ou perspectivas relevantes para saúde pública. Cada artigo deve conter objetivos e hipóteses claras, desenho e métodos utilizados, resultados, discussão e conclusões.

Informações Complementares:

Devem ter até 20 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.

As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 05 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas.

Devem ser apresentadas em arquivo separado.

As referências bibliográficas, limitadas a 40, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.

Os resumos em português e em inglês (abstract) devem ter até 200 palavras, com a indicação de 3 a 6 palavras-chave (keywords).

A estrutura dos artigos originais de pesquisa é a convencional: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusão, embora outros formatos possam ser aceitos, mas respeitando a lógica da estrutura de artigos científicos.

1.2 Artigos de Revisão: Dedicados à apresentação e à discussão de temas de interesse científico e de relevância para a saúde pública. Devem apresentar formulação clara de um objeto científico de interesse, argumentação lógica, crítica teórico-metodológica dos trabalhos consultados e síntese conclusiva. Devem ser elaborados por pesquisadores com experiência no campo em questão ou por especialistas de reconhecido saber.

Informações complementares:

Devem ter até 25 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.

As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 03 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas.

Devem ser apresentadas em arquivo separado.

As referências bibliográficas, limitadas a 50, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.

Os resumos em português e em inglês (abstract) devem ter até 200 palavras, com a indicação de 3 a 6 palavras-chave (keywords).

1.3 Comunicações Breves: São relatos sucintos destinados à rápida divulgação de eventos significativos no campo da pesquisa de interesse em saúde pública e que não comportam uma análise mais abrangente.

Informações complementares:

Devem ter até 10 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.

As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 02 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas.

Devem ser apresentadas em arquivo separado.

As referências bibliográficas, limitadas a 15, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.

Os resumos em português e em inglês (abstract) devem ter até 200 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (keywords).

Sua apresentação deve acompanhar as mesmas normas exigidas para artigos originais.

1.4 Notas Científicas: São relatos sucintos destinados à rápida divulgação de eventos relevantes de uma pesquisa experimental que justifique a publicação de resultados parciais.

Informações complementares:

Devem ter até 06 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.

As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 02 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas.

Devem ser apresentadas em arquivo separado.

As referências bibliográficas, limitadas a 10, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.

Os resumos em português e em inglês (abstract) devem ter até 200 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (keywords).

Sua apresentação deve acompanhar as mesmas normas exigidas para artigos originais, porém na forma de texto único.

1.5 Relatos de Caso: São textos que contemplam principalmente a área médica, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Informações complementares:

Devem ter até 03 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.

As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 02 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas.

Devem ser apresentadas em arquivo separado.

As referências bibliográficas, limitadas a 10, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.

Os resumos em português e em inglês (abstract) devem ter até 200 palavras e deve ter entre 3 a 6 palavras-chave (keywords).

Devem apresentar Introdução, Relato de caso, Discussão e Conclusão, na forma de texto único.

1.6 Resumos de Teses e Dissertações: São aceitos resumos de teses e dissertações até um ano após a defesa.

Informações complementares:

Devem ter até 400 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (keywords).

Sua apresentação deve conter o nome do autor e do orientador, título do trabalho em português e em inglês, nome da instituição em que foi apresentado, área de concentração e ano da defesa.

2. Apresentação do manuscrito: Os textos devem ser redigidos em processador de texto Word for Windows 2003 ou compatível, no formato A4, espaço duplo, fonte Times New Roman, tamanho 12. Devem ser evitados arquivos compactados. A estrutura do manuscrito deve estar em conformidade com as normas do Sistema Vancouver – Título; Autores e Instituições; Resumo e Abstract; Introdução; Material e Métodos; Resultados; Discussão; Conclusão; Agradecimentos; Referências; Tabelas; Figuras e Fotografias.

2.1 Página de Identificação: Deve constar:

Título em português e em inglês: O título deve ser conciso, completo e conter informações. Se o manuscrito for submetido em inglês, deve ser fornecido um título em português.

Autores: De acordo com o International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), são considerados autores aqueles que contribuíram substancialmente para a concepção e planejamento, ou análise e interpretação dos dados; contribuíram significativamente na elaboração do rascunho ou na revisão crítica do conteúdo e participaram da aprovação da versão final do mesmo. Somente a aquisição de financiamento, a coleta de dados ou supervisão geral de grupos de pesquisa não justificam autoria – maiores esclarecimentos sobre autoria podem ser encontrados na página do ICMJE (<http://www.icjme.org>). Deve constar o nome completo, sem abreviações e com último sobrenome em caixa alta (exemplo: Ana Maria Camargo da SILVA) e o e-mail do autor responsável. O autor responsável para troca de correspondência deve estar assinalado com asterisco (*) e apresentar também o endereço completo.

Afiliação: Deve ser indicada a instituição à qual cada autor está afiliado, na seguinte ordem de hierarquias institucionais de afiliação: laboratório, setor, seção, serviço, divisão, departamento, instituto, faculdade e universidade.

Financiamento da pesquisa: Se a pesquisa foi subvencionada, indicar o tipo de auxílio, o nome da agência financiadora e o respectivo número do processo.

Apresentação prévia: Quando baseado em tese ou dissertação, indicar o nome do autor, título, ano, nome do programa de pós-graduação e instituição onde foi apresentada. Quando apresentado em evento científico, indicar o nome do evento, local e ano da realização.

2.2 Preparo do manuscrito:

Resumo/Abstract: Todos os textos deverão ter resumos em português e inglês, dimensionados para ter até 200 palavras. Como regra geral, o resumo deve incluir objetivos do estudo, principais procedimentos metodológicos, principais resultados e conclusões.

Palavras-chave/keywords: Devem ser indicados entre 3 a 6 descritores do conteúdo, extraídos do vocabulário Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) da Bireme (disponível em <http://www.bireme.br>) nos idiomas português e inglês. Em inglês, com base no Medical Subject Headings (MeSH).

Caso não sejam encontrados descritores adequados para a temática do manuscrito, poderão ser indicados termos não existentes nos conjuntos citados.

Estrutura do texto:

A) Introdução: Deve ser breve, relatando o contexto e a justificativa do estudo, apoiados em referências pertinentes ao objetivo do manuscrito, sintetizando a importância e destacando as lacunas do conhecimento abordadas. Não deve incluir dados ou conclusões do estudo em referência

B) Material e Métodos: Os procedimentos adotados devem ser descritos claramente, bem como as variáveis analisadas, com a respectiva definição, quando necessária, e a hipótese a ser testada. Devem ser descritas a população e a amostra, instrumentos de medida, com a apresentação, se possível, de medidas de validade e conter informações sobre a coleta e processamento de dados. Deve ser incluída a devida referência para os métodos e técnicas empregados, inclusive os métodos estatísticos; métodos novos ou substancialmente modificados devem ser descritos, justificando as razões para seu uso e mencionando suas limitações.

Os critérios éticos da pesquisa devem ser respeitados; os autores devem explicitar que a pesquisa foi conduzida dentro de padrões éticos e foi aprovada por comitê de ética, indicando o nome do comitê de ética, número e data do registro.

C) Resultados: Devem ser apresentados em uma sequência lógica, iniciando-se com a descrição dos dados mais importantes. Tabelas e figuras devem ser restritas àquelas necessárias para argumentação e a descrição dos dados no texto deve ser restrita aos mais importantes. Os gráficos devem ser utilizados para destacar os resultados mais relevantes e resumir relações complexas. Dados em gráficos e tabelas não devem ser duplicados nem

repetidos no texto. Os resultados numéricos devem especificar os métodos estatísticos utilizados na análise.

D) Discussão: A partir dos dados obtidos e resultados alcançados, os novos e importantes aspectos observados devem ser interpretados à luz da literatura científica e das teorias existentes no campo. Argumentos e provas baseadas em comunicação de caráter pessoal ou divulgadas em documentos restritos não podem servir de apoio às argumentações do autor. Tanto as limitações do trabalho quanto suas implicações para futuras pesquisas devem ser esclarecidas. Incluir somente hipóteses e generalizações baseadas nos dados do trabalho. As conclusões podem finalizar esta parte, retomando o objetivo do trabalho ou serem apresentadas em item separado.

E) Agradecimentos: Este item é opcional e pode ser utilizado para mencionar os nomes de pessoas que, embora não preencham os requisitos de autoria, prestaram colaboração ao trabalho. Será preciso explicitar o motivo do agradecimento, por exemplo, consultoria científica, revisão crítica do manuscrito, coleta de dados etc. Deve haver permissão expressa dos nomeados e o autor responsável deve anexar a Declaração de Responsabilidade pelos Agradecimentos. Também pode constar desta parte apoio logístico de instituições.

2.3 Citação no texto: A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores. Devem ser indicadas pelo seu número na listagem, na forma de expoente, sem uso de parênteses, colchetes e similares. Nos casos em que há citação do nome do autor, o número da referência deve ser colocado a seguir do nome do autor. Trabalhos com dois autores devem fazer referência aos dois autores ligados por “e”. Nos outros casos apresentar apenas o primeiro autor (seguido de et al, em caso de autoria múltipla).

Exemplos: Nos Estados Unidos e Canadá, a obrigatoriedade da declaração dos nutrientes no rótulo do alimento é mais antiga e foram desenvolvidos métodos hidrolíticos, como o AOAC 996.06₁, de extração e determinação da GT por cálculo a partir dos AG obtidos por cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (GC/DIC)_{2,3}. Segundo Chang et al₃₁, o aumento do tamanho das partículas resulta numa redução da área de superfície conferindo uma melhora na retenção e estabilidade das mesmas.

2.4 Referências: Listadas ao final do texto, devem respeitar a quantidade definida para cada categoria de artigos aceitos pela RIAL. As referências devem ser normalizadas de acordo com o estilo Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication, numeradas consecutivamente na ordem em que foram mencionadas a primeira vez no texto. Os títulos de periódicos devem ser referidos de forma abreviada, de acordo com o Medline, disponível no endereço <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journals>. Para consultar periódicos nacionais e latino-americanos: <http://portal.revistas.bvs.br/main.php?home=true&lang=pt>. No caso de publicações com até seis autores, citam-se todos; acima de seis, citam-se os seis primeiros, seguidos da expressão latina “et al”. Referências de um mesmo autor devem ser organizadas em ordem cronológica crescente.

Exemplos:

Artigos de periódicos:

Aued-Pimentel S, Zenebon O. Lipídios totais e ácidos graxos na informação nutricional do rótulo dos alimentos embalados: aspectos sobre legislação e quantificação. Rev Inst Adolfo Lutz. 2009;68(2):121-6.

Weihrauch JL, Posati LP, Anderson BA, Exler J. Lipid conversion factors for calculating fatty acids contents of foods. *J Am Oil Chem Soc.* 1977;54:36-40.

Hennington EA. Acolhimento como prática interdisciplinar num programa de extensão. *Cad Saude Coletiva* [Internet]. 2005;21(1):256-65. Disponível em: [http://www.scielo.br/pdf/csp/v21n1/28.pdf].

Livros:

Ringsven MK, Bond D. *Gerontology and leadership skills for nurses*. 2ª ed. Albany (NY):Delmar Publishers;1996.

Lopez D, organizador. *Estudos epidemiológicos qualitativos*. São Paulo: James Martim; 2009. Institute of Medicine (US). *Looking at the future of the Medicaid program*. Washington (DC): The Institute; 1992.

Foley KM, Gelband H, editors. *Improving palliative care for cancer*. Washington: National Academy Press 2001[acesso 2003 Jul 13]. Disponível em: [http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10149].

Capítulos de livro:

Wirdh L. História da Epidemiologia. In: Lopez D, organizador. *Estudos epidemiológicos qualitativos*. São Paulo: James Martim; 2009.p.64-76.

Dissertações, teses e monografias:

Santos EP. *Estabilidade química da manteiga da terra* [dissertação de mestrado]. Bananeiras (PB): Universidade Federal da Paraíba; 1995.

Moreschi ECP. *Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos e avaliação da estabilidade de vitaminas hidrossolúveis em alimentos* [tese de doutorado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2006.

Trabalhos de congressos, simpósios, encontros, seminários e outros:

Barboza et al. Descentralização das políticas públicas em DST/AIDS no Estado de São Paulo. III Encontro do Programa de Pós-Graduação em Infecções e Saúde Pública; agosto de 2004; São Paulo: Rev Inst Adolfo Lutz. p. 34 [resumo 32-SC].

Dados eletrônicos:

Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo – SABESP. *O que fazemos/Qualidade da água*. [acesso 2008 Set 17]. Disponível em: [http://www.sabesp.com.br/CalandraWeb/CalandraRedirect/?temp=4&proj=sabesp&pu b=T&db=&doc].

Legislação:

Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil. Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, nº7-E. p.45-53.

Autoria institucional:

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo - Brasil). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. 4ª ed. [1ª ed. digital]. São Paulo (SP): Instituto Adolfo Lutz; 2008. Disponível em:

[http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=7&func=select&orderby=1&Itemid=7].

Organización Mundial de la Salud – OMS. Como investigar el uso de medicamentos em los servicios de salud. Indicadores seleccionados del uso de medicamentos. Ginebra; 1993. (DAP. 93.1).

Patente:

Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors: Novoste Corporation, assignee. Methods for procedures related to eletrophysiology of the heart. US patent 5,529,067. 1995 Jun 25.

Casos não contemplados nesta instrução devem ser citados conforme indicação do Committee of Medical Journals Editors (Grupo Vancouver), disponível em: <http://www.cmje.org>. Referências a documentos não indexados na literatura científica mundial, em geral de divulgação circunscrita a uma instituição ou a um evento (teses, relatórios de pesquisa, comunicações em eventos, dentre outros) e informações extraídas de documentos eletrônicos, não mantidas permanentemente em sites, se relevantes, devem figurar no rodapé das páginas do texto onde foram citadas.

2.5 Números de figuras e tabelas: A quantidade de figuras e tabelas de cada manuscrito deve respeitar a quantidade definida para cada categoria de artigos aceitos pela RIAL. Todos os elementos gráficos ou tabulares apresentados serão identificados como figura ou tabela, e numerados sequencialmente a partir de um, e não como quadros, gráficos etc.

A) Tabelas: Devem ser redigidas em processador de texto Word for Windows 2003 ou compatível e serem apresentadas em arquivos separados, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. A cada uma deve-se atribuir um título breve, não se utilizando traços internos horizontais ou verticais. As notas explicativas devem ser limitadas ao menor número possível e colocadas no rodapé das tabelas e não no cabeçalho ou título. Se houver tabela extraída de outro trabalho, previamente publicado, os autores devem solicitar formalmente autorização da revista que a publicou, para sua reprodução.

B) Figuras: As ilustrações (fotografias, desenhos, gráficos etc.) devem ser citadas como Figuras, apresentadas em arquivos separados e numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na ordem em que foram citadas no texto. Devem conter título e legenda apresentados na parte inferior da figura. Só serão admitidas para publicação figuras suficientemente claras e com qualidade digital que permitam sua impressão, preferencialmente no formato vetorial. No formato JPEG, a resolução mínima deve ser de 300 dpi. Figuras em cores serão publicadas quando for necessária à clareza da informação e os custos deverão ser cobertos pelos autores. Se houver figura extraída de outro trabalho, previamente publicado, os autores devem solicitar autorização, por escrito, para sua reprodução.

3. Declarações e documentos solicitados: Em conformidade com as diretrizes do International Committee of Medical Journal Editors, são solicitados alguns documentos e declarações do(s) autor(es) para a avaliação de seu manuscrito. Observe a relação dos documentos abaixo e, nos casos em que se aplique, anexe o documento ao processo. O momento em que tais documentos serão solicitados é variável:

Documento/declaração Quem assina Quando anexar

Carta de Apresentação Todos Submissão

Responsabilidade pelos Agradecimentos Autor responsável Aprovação

Transferência de Direitos Autorais Todos Aprovação

A carta de Apresentação do manuscrito, assinada por todos os autores, deve conter:

Um parágrafo declarando a responsabilidade de cada autor: ter contribuído substancialmente para a concepção e planejamento ou análise e interpretação dos dados; ter contribuído significativamente na elaboração do rascunho ou na revisão crítica do conteúdo; e ter participado da aprovação da versão final do manuscrito. Para maiores informações sobre critérios de autoria, consulte a página do ICMJE (<http://www.icjme.org>).

Um parágrafo contendo a declaração de potenciais conflitos de interesses dos autores.

Um parágrafo contendo a declaração que o trabalho não foi publicado, parcial ou integralmente, em outro periódico. Todos os autores devem ler, assinar e enviar documento transferindo os direitos autorais. O artigo só será liberado para publicação quando esse documento estiver de posse da RIAL.

4. Verificação dos itens exigidos na submissão:

1. Nome e instituição de afiliação de cada autor, incluindo e-mail e telefone do autor responsável.
2. Título do manuscrito, em português e inglês.
3. Texto apresentado em letras Times New Roman, corpo 12, em formato Word ou similar (doc, txt, rtf).
4. Resumos em dois idiomas, um deles obrigatoriamente em inglês.
5. Carta de Apresentação assinada por todos os autores.
6. Nome da agência financiadora e número(s) do processo(s).
7. No caso de artigo baseado em tese/dissertação, indicar o nome da instituição/Programa, grau e o ano de defesa.
8. Referências normalizadas segundo estilo Vancouver, ordenadas pela citação no texto e numeradas, e se todas estão citadas no texto.
9. Tabelas numeradas sequencialmente, com título e notas, e no máximo com 12 colunas, em formato Word ou similar (doc, txt, rtf).
10. Figura no formato vetorial ou em pdf, ou tif, ou jpeg ou bmp, com resolução mínima 300 dpi.

5. Revisão da redação científica: Para ser publicado, o manuscrito aprovado é submetido à revisão da redação científica, gramatical e de estilo. A RIAL se reserva o direito de introduzir alterações nos originais, visando a manutenção da homogeneidade e qualidade da publicação, respeitando, porém, o estilo e as opiniões dos autores.

Inclusive a versão em inglês do artigo terá esta etapa de revisão.

6. Provas: Após sua aprovação pelos editores, o manuscrito será revisado quanto à redação científica. O autor responsável pela correspondência receberá as provas gráficas para revisão por correio eletrônico em formato pdf (portable document format). O prazo máximo para a revisão da prova é de dois dias. É importante cumprir os prazos de revisão para garantir a publicação no fascículo programado. Atrasos nesta fase poderão resultar em remanejamento do artigo para fascículos subsequentes.

7. Publicação e distribuição: Os artigos serão publicados em ordem cronológica de aprovação. As datas de recebimento e de aprovação do artigo constarão obrigatoriamente no mesmo.

É permitida a reprodução, no todo ou em parte, de artigos publicados na RIAL, desde que sejam indicados a origem e o nome do autor, de conformidade com a legislação sobre os direitos autorais.

A Revista do Instituto Adolfo Lutz é distribuída gratuitamente a entidades governamentais, culturais ou em permuta de periódicos nacionais ou estrangeiros.