UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA E SANIDADE ANIMAL

BRUCELOSE EM SUÍNOS:
ESTUDO CASO NO DISTRITO DE CASTELO BRANCO

Manuel Vicente de Freitas Martins

LISBOA, 1993

UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA E SANIDADE ANIMAL

BRUCELOSE EM SUÍNOS:
ESTUDO CASO NO DISTRITO DE CASTELO BRANCO

Manuel Vicente de Freitas Martins

Este trabalho foi expressamente elaborado como dissertação original para efeito da obtenção do Grau de Mestre em Saúde Pública Veterinária sendo apresentado na Faculdade de Medicina Veterinária.
Toda a orientação e colaboração recebidas são mencionadas.

UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA E SANIDADE ANIMAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM
SAÚDE PÚBLICA VETERINÁRIA

ANO LECTIVO _____ DATA __/__/__ REGISTO Nº _____

NOME DO ALUNO _____

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:

JÚRI:

PRESIDENTE: _____

EXAMINADOR EXTERNO: _____

ORIENTADOR: _____

Agradecimentos

Na execução deste trabalho queremos agradecer a todos os que de alguma forma para ele contribuiram, em especial:

Ao Senhor Professor Carlos Alberto Gonçalves Ferreira, da Faculdade de Medicina Veterinária, orientador científico, pela disponibilidade sempre demonstrada, sugestões e leitura crítica do trabalho;

Ao Senhor Professor José António Carmona Abreu Lopes, pelos esclarecimentos, sugestões e disponibilidade sempre demonstrada;

Ao Senhor Professor Vírgilio Silva Almeida, pela disponibilidade e acompanhamento sempre dispensados;

Ao Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, em especial ao seu Director Dr. Matos Águas, pelas facilidades concedidas na utilização das instalações do L.N.I.V.;

À Drª. Maria Inácia Vacas de Carvalho e à Drª. Isabel Travassos Dias pelo acompanhamento dispensado na execução das análises bacteriológicas, assim como pelo apoio e estimulo demonstrados;

À Direcção Regional de Agricultura da Beira Interior, pelas facilidades concedidas na utilização das instalações do Laboratório Regional de Apoio de Alcains;

À Drª. Ana Maria Belo e a todos os funcionários do Laboratório Regional de Apoio de Alcains, em especial ao sector de Brucelose, pela amabilidade e apoio prestado;

Ao I.R.O.M.A., pelas facilidades concedidas na utilização do Matadouro da Consal em Alcains;

À Administração Regional de Saúde de Castelo Branco, às Delegações de Saúde do concelho de Castelo Branco e à Delegação de Saúde de Mação pelos esclarecimentos prestados;

Ao Laboratório de Análises Clínicas, Lda, Hemobiolab, pelos dados fornecidos;

Ao Senhor Drº. Manuel Flamínio Garcia Ávila, pela sua disponibilidade e amizade;

Aos colegas Fernando José de Sousa Tendinha e António José Mendes Manteigas pelo apoio, estimulo e amizade, sempre demonstrados;

Aos colegas António Marques Valente Ribeiro e António Castanheira Campos, pela disponibilidade demonstrada na visita às explorações suínas;

Ao Engº. Téc. Rui Tomás Monteiro, ao Hélder Pedro Pires Ribeiro e à Ana Maria Gamas pela formatação e ilustração do texto;

À Anabela Fonseca pela ajuda dispensada na correcção do texto;

Ao Senhor Manuel Marques Salvado dos Santos pela execução da capa do trabalho;

À Senhora Engª. Telma Clotilde Marie-Jeanne pela disponibilidade e paciência no apoio ao tratamento dos dados;

À Escola Superior Agrária de Castelo Branco, na pessoa do Senhor Professor Drº. Vergílio Pinto de Andrade, por ter possibilitado a nossa presença no Mestrado de Saúde Pública Veterinária;

À Faculdade de Medicina Veterinária por todo o apoio dispensado;

A todos os nossos colegas e amigos que de algum modo contribuiram para a realização deste trabalho.

O nosso BEM HAJAM

À Adelina e à Ana Rita

Resumo

Foi realizado um estudo sobre a brucelose em suínos no distrito de Castelo Branco. De 1920 sangues colhidos no matadouro, 4,3 % dos soros foram positivos no teste do Rosa Bengala, enquanto apenas 0,68 % apresentaram títulos positivos (1+ ou mais na diluição 1:8) ao teste da Fixação do Complemento. Nenhum soro foi classificado como positivo no teste de Aglutinação Lenta em Tubo.

Foram colhidos amostras de orgãos em 202 animais, 122 reprodutores e 80 suínos de engorda, não tendo sido isolada *Brucella* em nenhuma das amostras.

Num inquérito às suiniculturas, foi possível estabelecer alguns indicadores necessários a estudos futuros sobre os diferentes agentes etiológicos que perturbam o normal funcionamento das explorações da região em causa. Igualmente se reconhece a existência de alguns factores que podem tornar possível o estabelecimento da infecção brucélica nos suínos, sobretudo em explorações de carácter caseiro.

Palavras Chave: Brucelose; Suínos; Rosa Bengala; Aglutinação Lenta em Tubo; Fixação do Complemento.

Abstract

Swine Brucelosis: Case-Study in the Region of Castelo Branco

A research on swine brucellosis was done in the region of Castelo Branco. From 1920 blood samples taken in the slaughterhouse, 4,3 % of the sera showed positive results in the Rose Bengal Test, while only 0,68 % was positive (1+ or more in a 1:8 dilution) in the Fixation Complement Test. No serum was classified as positive in the Tube Serum-agglutination Test.

Samples of organs were taken from 202 animals, 122 adult swines and 80 fattening swines, but no *Brucella* was isolated in any sample.

Through a questionnaire to the pig units, it was possible to establish some necessary indicators for future researches on the different aetiological agents which disturb the ordinary way of working of the pig units in this region. Some factors that may make possible the brucellosis infection of swine , mainly in family-run pig units.

Keywords: Brucellosis; Swine; Rose Bengal Test; Serum-agglutination Test; Fixation Complement Test.

Lista de abreviaturas

A.A.C. - Acção Anticomplementar
A.D.S. - Associação de Defesa Sanitária
AG. - Antigénio
A.L.T. - Aglutinação Lenta em Tubo
A.R.S. - Administração Regional de Saúde
C.E.E. - Comunidade Económica Europeia
D.G.C.S.P. - Direcção Geral dos Cuidados de Saúde Primários
Dil. - Diluição
Diluiç. - Diluição
D.R.A.B.I. - Direcção Regional de Agricultura da Beira Interior
E.U.A. - Estados Unidos da América
expl. - Exploração
explor. - Exploração
FAM. - Familiar
F.A.O. - Food Alimentation Organization
F.C. - Fixação do Complemento
Fenic. - Fenicada
Fisol. - Fisiológica
g - Gramas
Ig - Imunoglobulina
IND. - Industrial
I.R.O.M.A. - Instituto Regulador e Orientador dos Mercados Agrícolas
L. - Limiar
L.N.I.V. - Laboratório Nacional de Investigação Veterinária
LPS-L - Lipopolissacarídica-Lisa
LPS-R - Lipopolissacarídica-Rugosa
N - Negativo
Nº - Número
O.M.S. - Organização Mundial de Saúde
P - Positivo
POS. - Positivo
Posit. - Positividade
Post. - Posteriores
P.S.A. - Peste Suína Africana
R.B. - Rosa Bengala
r.p.m. - Rotações por minuto
Sol. - Solução
T.V. - Tampão veronal
U.A. - Unidades Antigénicas
U.H.H. - Unidades hemolíticas de hemolisina
U.H.C. - Unidades hemolíticas de complemento
U.I./ml - Unidades Internacionais/mililitro
U.S.D.A. - United State Department of Agriculture
V.V. do Rodão - Vila Velha do Rodão
ZIS - Zona de Intervenção Sanitária

Lista de Quadros

Quadro 1 - Número de explorações e de suínos no distrito de Castelo Branco
Quadro 2 - Brucelose humana, casos notificados por concelhos (distrito de Castelo Branco)
Quadro 3 - Brucelose humana (Profissão/Ocupação)
Quadro 4 - Detecção de Imunoglobulinas após infecção brucélica
Quadro 5 - Distribuição dos animais amostrados no matadouro e resultados sorológicos por concelho
Quadro 6 - Resultados da sorologia em suínos abatidos no matadouro (totais)
Quadro 7 - Resultados da sorologia em suínos abatidos no matadouro
Quadro 8 - Resultados da sorologia sexo/função
Quadro 9 - Resultados da sorologia R.B./A.L.T.
Quadro 10 - Resultados da sorologia R.B./F.C.
Quadro 11 - Resultados da sorologia F.C./A.L.T.
Quadro 12 - Resultados sorológicos R.B./F.C./A.L.T.
Quadro 13 - Material colhido para bacteriologia
Quadro 14 - Suínos com material colhido para bacteriologia (resultados da sorologia)
Quadro 15 - Tipo de alimentação (resposta ao inquérito)

Quadro 16 - Média de leitões por porca ao desmame (resposta ao inquérito)
Quadro 17 - Patologia (resposta ao inquérito)
Quadro 18 - Vacinação dos reprodutores (resposta ao inquérito)
Quadro 19 - Presença de animais na exploração (resposta ao inquérito)
Quadro 20 - Bovinos saneados na área da D.R.A.B.I. - ZIS 11
Quadro 21 - Ovinos saneados na área da D.R.A.B.I. - ZIS 11 (1989)
Quadro 22 - Ovinos saneados na área da D.R.A.B.I. . ZIS 11 (1990)
Quadro 23 - Ovinos saneados na área da D.R.A.B.I. - ZIS 11 (1991)
Quadro 24 - Ovinos saneados na área da D.R.A.B.I. - ZIS 11 (1992)
Quadro 25 - Caprinos saneados na área da D.R.A.B.I. - ZIS 11 (1989)
Quadro 26 - Caprinos saneados na área da D.R.A.B.I. - ZIS 11 (1990)
Quadro 27 - Caprinos saneados na área da D.R.A.B.I. - ZIS 11 (1991)
Quadro 28 - Caprinos saneados na área da D.R.A.B.I. - ZIS 11 (1992)

Lista de Figuras

Figura 1 - Distribuição geográfica dos biovares de Brucella suis e espécies animais associadas à infecção.
Figura 2 - Vias de infecção possíveis da *Brucella suis*, biovar 2.
Figura 3 - Principais Àreas de Concentração de Explorações Suínas e Espécies Animais Silváticas.

Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Imunoglobulinas detectáveis no soro, pós infecção, ao longo do tempo
Gráfico 2 - Distribuição dos animais por tipo de exploração, por engorda e reprodutores e por sexo
Gráfico 3 - Resultados totais no teste do Rosa Bengala
Gráfico 4 - Resultados totais no teste de Aglutinação Lenta em Tubo
Gráfico 5 - Resultados totais no teste da Fixação do Complemento

INDÍCE

Introdução 1

CAPÍTULO I - ESTRUTURA DO SISTEMA DE PRODUÇÃO DE SUÍNOS E PANORAMA DA BRUCELOSE NO DISTRITO DE CASTELO BRANCO. 4

1.1. Breve caracterização da suinicultura no Distrito de Castelo Branco 4
1.2. A Brucelose no Distrito de Castelo Branco 6
1.2.1. Brucelose Animal 6
1.2.2. Brucelose Humana 7

CAPÍTULO II - BRUCELOSE SUÍNA 10

2.1. Género *Brucella* 10
2.1.1. Biovares da *Brucella suis* e a sua distribuição mundial 11
2.2. Brucelose suína 12
2.2.1. Importância económica da brucelose suína 12
2.2.2. Epidemiologia 13
2.2.2.1. A intertransmissibilidade das espécies de *Brucella* 16
2.2.2.2. A viabilidade da *Brucella* 18

2.2.3. Patogenia 18
2.2.4. Sintomatologia 21
2.2.5. Lesões 22
2.2.6. Diagnóstico 23
2.2.7. Métodos de controlo e erradicação 29
2.2.8. Brucelose humana 30

CAPÍTULO III - MATERIAIS E MÉTODOS 32

3.1. Colheitas de sangue nos suínos abatidos no matadouro 33
3.2. Colheitas de sangue nos efectivos de origem 33
3.3. Colheitas de orgãos nos suínos abatidos no matadouro 34
3.4. Observação e registo de lesões 35
3.5. Processamento do material colhido no matadouro 35
3.5.1. Sorologia 35
3.5.2. Bacteriologia 35
3.6. Classificação dos resultados obtidos na sorologia 36
3.7. Inquérito às explorações de suínos do Distrito de Castelo Branco. 37
3.8. Tratamento dos dados. 37

CAPÍTULO IV - APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS 38

4.1. Resultados sorológicos dos sangues colhidos no matadouro 38
4.2. Resultados da sorologia e bacteriologia 47
4.3. Resultados sorológicos dos sangues colhidos nas explorações 49
4.4. Lesões observadas no matadouro 50
4.5. Resultados do inquérito às explorações 50

CAPÍTULO V - DISCUSSÃO DOS RESULTADOS 55

CAPÍTULO VI - CONCLUSÕES 61

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 63

ANEXOS 76

INTRODUÇÃO

A entrada de Portugal no Mercado Comum veio envolver a agricultura numa série de alterações tendo em vista a sua modernização face à competitividade exibida pela agricultura dos países parceiros na CEE.

Vários factores têm obstado à expansão e desenvolvimento da produção animal, entre os quais, os inúmeros problemas sanitários que afectam as explorações pecuárias.

Devido ao potencial económico que a suinicultura nacional representa, torna-se necessário desenvolver estudos orientados para as causas que geram perdas de produtividade, como o aborto ou as deficiências reprodutivas; de igual forma, é importante conhecer a influência exercida pelos suínos como portadores e disseminadores de agentes responsáveis por infecções transmissíveis aos outros animais, assim como ao homem.

A brucelose animal, permanece como um problema real em algumas regiões do país, nos ruminantes, mas a sua prevalência e a incidência têm sido reduzidas grandemente, como resultado da intervenção dos A.D.S. que se implantaram por todo o país.

Em países onde a brucelose animal foi erradicada ou está em fase de erradicação, alguns surtos de brucelose têm surgido em rebanhos classificados como indemnes e associados à presença de outras espécies animais, entre as quais os suídeos domésticos e silváticos, que funcionam como reservatórios de *Brucella*.

Embora a brucelose não tenha até ao momento sido declarada oficialmente em Portugal nos suínos, a intertransmissibilidade das *Brucella*, a existência de explorações mistas, explorações de carácter extensivo, o grande número de explorações familiares de carácter caseiro, as importações de suínos com realce para os reprodutores, sugerem que o porco possa ser um potencial reservatório de *Brucella*, pondo em risco o sucesso dos programas de controlo de erradicação da brucelose nos ruminantes, diminuindo a rentabilidade económica dos suinicultores e agravando os problemas de Saúde Pública.

Foi possível ao Autor apurar apenas duas referências de isolamento de *Brucella suis* em Portugal:

-TEIXEIRA e GOMES (1974), citam MOREIRA JACOB (1955) como tendo isolado *Brucella suis* e *Brucella melitensis* em suínos e em 1982, HELLMANN citado por DEDEK (1983), isolou *Brucella suis* em pequenos ruminantes em Portugal. Não existem outros dados sobre a existência de brucelose suína no nosso país, uma vez que não existe qualquer sistema de vigilância montado para o controlo da infecção nesta espécie animal, tendo as campanhas de controlo e erradicação da brucelose sido desenvolvidas apenas nos ruminantes.

Para se iniciar o estudo da brucelose em suínos torna-se necessário conhecer a sua prevalência, baseando-se numa amostragem sorológica, assim como a estrutura das explorações, o mercado e o movimento interno dos suínos, procurando obter um conhecimento sobre a epidemiologia da brucelose na região, tendo em conta futuras medidas de controlo e erradicação da doença nos suínos, assim como definir o seu papel como disseminador e transmissor da doença a outras espécies animais e ao Homem.

Assim face ao desconhecimento actual sobre a doença nos suínos em Portugal, e em particular no distrito de Castelo Branco, a realização deste trabalho tem como objectivos:

1 - Detectar a presença de brucelose nos suínos da região do distrito de Castelo Branco.

2 - Estudar a epidemiologia da brucelose dos suínos:

2.1 - Determinar a prevalência da brucelose em suínos pelo diagnóstico sorológico, mediante os testes de Rosa Bengala, Aglutinação Lenta em Tubo e Fixação do Complemento, em suínos abatidos no

Matadouro da Consal (I.R.O.M.A.), em Alcains, e dos efectivos que possam ser considerados como possivelmente infectados, em função dos resultados obtidos no matadouro.

2.2 - Diagnóstico bacteriológico, a partir de orgãos colhidos de suínos reprodutores abatidos no matadouro, e de suínos de engorda com origem em explorações eventualmente infectadas, com o propósito de confirmar a possível existência da infecção e determinar a sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos utilizados.

2.3 - Realizar um inquérito epidemiológico às explorações de suínos da região, procurando detectar associações entre o maneio nas explorações e a possível ocorrência de brucelose.

2.4 - Reportar a existência de casos de brucelose humana e a sua provável ligação a surtos de brucelose nos suínos.

CAPÍTULO I

Estrutura do Sistema de Produção de Suínos e Panorama da Brucelose no Distrito de Castelo Branco.

1.1. Breve caracterização da suinicultura no Distrito de Castelo Branco

A suinicultura no Distrito de Castelo Branco atravessa um período de relativa estabilidade, como de resto acontece no mercado do porco a nível nacional , principalmente depois da criação da denominada "Bolsa do Porco". Esta estabilidade veio criar algumas boas perspectivas, traduzidas pelo aumento dos investimentos nas explorações por parte dos suinicultores, com um aumento gradual do número de fêmeas reprodutoras por exploração.

A necessidade de implementar as Normas Regulamentares do Decreto Lei nº 273/79 de 24 de Julho, face às exigências da CEE, tem obrigado os suinicultores a investir igualmente em infraestruturas, permitindo o melhoramento das condições mínimas de exploração dos animais, e ao

mesmo tempo provocar o encerramento de explorações que não dispõem de condições para cumprir as exigências determinadas.

Em Dezembro de 1991, foram declaradas 193 explorações industriais e familiares, com um total de 4339 porcas reprodutoras, correspondentes a 1,4 % do total do efectivo suíno reprodutor nacional (Soares *et al.*, 1992) (Quadro nº 1).

Quadro 1 - Número de explorações e de suínos no distrito de Castelo Branco

Tipo	Com reprodutores					Sem reprodutores	
Exploração	Nº exp.	machos	fêmeas	subst.	engorda	Nº exp.	Nº suínos
Industrial	40	186	3403	382	28684	1	230
Familiar	153	134	936	138	4670	24	326
Total	193	310	4339	420	23354	25	556

Declaração de efectivos - Dezembro 1991 (DRABI)

O concelho de Castelo Branco, em especial a freguesia de Alcains, os concelhos do Fundão, Sertã e ainda a freguesia de Cardigos no concelho de Mação, são as zonas de maior concentração de explorações, quer industriais quer familiares.

Nas explorações industriais, a média de porcas reprodutoras é de 85 por exploração, e a média de varrascos é de 4,65. Nas explorações ditas familiares, essas médias são respectivamente de 6 e 0,87. O efectivo de substituição, nas explorações industriais, é em média de 9,55, o que corresponde a uma taxa de substituição média anual de 11,23 % e nas explorações familiares, essa taxa é em média de 15 % (Quadro nº 1).

Foram ainda declarados 25 efectivos sem reprodutores, número esse que está longe da realidade, uma vez que esses efectivos são praticamente todos do concelho de Penamacor, mas é sabido que este tipo de exploração prolifera, pelas aldeias e pelos campos, dado o hábito tradicional da matança do porco em toda a região.

As raças exploradas na região, são nas linhas fêmeas, o cruzamento Large White x Land Race, e nas linhas macho, o Pietran ou o cruzamento Pietran x Duroc.

A alimentação dos suínos de engorda é feita, na maioria das explorações, de forma restringida, geralmente com sistemas de distribuição da ração automáticos, sendo poucas as que utilizam o sistema *ad libitum*.

Os cereais mais utilizados no fabrico das rações são o milho, a cevada e o trigo, enquanto a soja e a farinha de peixe são os alimentos proteicos preferidos. Na região, existem duas fábricas de rações, se bem que geralmente, grande parte das rações consumidas sejam compradas a fábricas fora do distrito.

O número de leitões desmamados por porca/desmame, é de 8,43 e 4,99, respectivamente nas explorações industriais e familiares (Quadro nº 1). O abate é feito, de um modo geral, entre os 5 meses e meio e os 6 meses de idade, com um peso médio de 72 Kg de carcaça (Anuário Pecuário 1991). As porcas, por sua vez, são abatidas em função da idade, normalmente após 5 ou 6 gestações.

Entre as patologias que afectam de um modo geral as suiniculturas, destacam-se as colibaciloses, as clostridioses, as micoplasmoses, a Rinite Atrófica, a Doença de Aujeszky, infecções por *Streptococcus suis*, Mal Rubro e a Gastroenterite Transmissível dos suínos. Nos adultos, são frequentes as micoplasmoses e infecções víricas várias como SMEDI e Parvovirose. Estes dados foram obtidos pela consulta dos registos existentes no Laboratório Regional de Alcains e pela informação prestada por alguns Médicos Veterinários assistentes das explorações.

Foi possível ainda saber que existem entre 200 a 300 reprodutores de montado, divididos por 5 explorações, embora não haja números oficiais. Duas das explorações, criam javalis conjuntamente com os porcos de montado, uma vez que estão integradas em áreas reservadas à caça. Estes números poderão vir a ser aumentados muito em breve, uma vez que os espanhóis tem demonstrado grande interesse nestes suínos, para o fabrico do presunto "Pata Negra", interesse esse extensivo a algumas indústrias de carnes da região. Por outro lado, foi aprovado recentemente um programa comunitário, NOVAGRI, que prevê o financiamento de projectos que visem a produção do porco de montado no Alentejo e na Beira Interior.

1.2. A Brucelose no Distrito de Castelo Branco

1.2.1. Brucelose Animal

Dois passos importantes na eliminação da brucelose em Portugal foram dados com a criação dos Agrupamentos de Defesa Sanitária (ADS) pela Portaria 63/86 e pela aprovação pela Comunidade do "Plano Acelerado

de Erradicação da Brucelose" em 1987, publicado no Diário da República I-série-B, nº 237, pela Portaria nº 1051/91 de 15 de Outubro. Foi possível deste modo, diminuir a prevalência e a incidência da brucelose nos ruminantes em todo o país, com relativo sucesso, embora a brucelose constitua ainda a principal zoonose em Portugal.

A Beira Interior, conseguiu bons resultados na aplicação do programa, embora tenham surgido alguns problemas, nomeadamente o atraso no pagamento dos subsídios de abate dos animais infectados, constituindo um entrave ao desenrolamento normal de toda a campanha.

Algumas das regiões da Beira Interior ainda mantêm focos de brucelose relativamente importantes, nomeadamente na região da Serra da Estrela, na Covilhã e em Belmonte, onde a situação parece difícil de resolver dado as características do terreno, a falta de formação dos produtores e a transumânsia animal que se verifica.

A brucelose nos bovinos está controlada e em fase avançada de erradicação. A vacinação só é aplicada em casos excepcionais nos concelhos da Covilhã e do Fundão (Quadro nº 20) (Anexo I).

Nos pequenos ruminantes a situação está praticamente controlada com excepção de alguns rebanhos, localizados sobretudo nos concelhos da Covilhã, do Fundão e de Penamacor (Quadros nºs 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 e 28) (Anexo I).

Nestas espécies animais verifica-se um número de reactores por rebanho muito baixo, mas um número de rebanhos com reactores relativamente elevado, reflectindo uma grande dispersão da infecção entre os rebanhos.

Prevê-se que durante o ano de 1993 seja possível declarar algumas zonas da Beira Interior como indemnes de brucelose animal, tendo em conta a evolução positiva da situação da brucelose animal.

1.2.2. Brucelose Humana

Segundo a D.G.C.S.P., a taxa de incidência referente aos novos casos notificados em 1990, é de 26,5 por 100.000 habitantes, no distrito de Castelo Branco.

O número de casos declarados decresceu de 1989 para 1990, tendo havido um ligeiro aumento durante o ano de 1991(Quadro nº 2).

O maior número de casos foi declarado nos concelhos da Covilhã e do Fundão, no distrito de Castelo Branco, regiões onde actualmente a brucelose assume maior importância a nível animal.

Quadro 2 - Brucelose humana, casos notificados por concelhos (distrito de Castelo Branco)

Concelho	1989	1990	1991
Belmonte	3	3	6
Castelo Branco	13	13	9
Covilhã	35	24	30
Fundão	21	10	13
Idanha-a-Nova	10	6	1
Oleiros	-	-	-
Penamacor	12	-	2
Proença-a-Nova	3	-	1
Sertã	1	2	-
Vila de Rei	-	-	1
Vila Velha de Rodão	1	-	-
Total	99	58	63

Fonte: D.G.C.S.P.

O número de casos humanos será com toda a certeza maior, uma vez que alguns desses casos não são declarados e porque o diagnóstico clínico muitas vezes é complicado. Analisando os dados cedidos gentilmente por um laboratório de análises clínicas da cidade de Castelo Branco, de 13/07/90 a 31/03/92, verifica-se que foram detectados 227 soros com títulos nas diluições desde 1/20 até 1/1280 na prova de Wright, o que leva a pressupôr a existência de casos não declarados. Estes dados levam-nos também a pensar que há uma maior sensibilização dos médicos para a brucelose, tornando possível a detecção de um maior número de casos humanos, embora se note infelizmente uma falta de sincronização entre os serviços de saúde animal e os serviços de saúde humana.

Dos soros analisados, 160 eram de pessoas do concelho de Castelo Branco, distribuídos por quase todas as freguesias, de indivíduos de ambos os sexos, embora com maior incidência entre os homens, e com idades que variavam entre os 6 e os 83 anos.

No quadro nº 3, pode observar-se a distribuição dos casos de brucelose humana por profissões (1990).

Dados fornecidos pela A.R.S. de Castelo Branco e pelos Centros de Saúde do distrito, referentes a anos anteriores, acrescentam outros profissionais à lista apresentada pelo quadro nº 3, nomeadamente profissionais dos A.D.S., magarefes, professores, pedreiros, escriturários, cabo da guarda, mecânico, camionista, operário de confecções e empregado de balcão.

Quadro 3 - Brucelose humana (profissão/ocupação) (1990)

Profissão	Castelo Branco
Agricultor/Tractorista	17
Criador de animais/Pastor	2
Doméstica	6
Estudante	5
Magarefe/Preparador de carnes	1
Pessoal do comércio	3
Outros	11
Reformado	4
Ignorado	9
Total	**58**

Fonte: D.G.C.S.P.

No entanto, aqueles que desempenham uma profissão ligada aos animais e aos produtos alimentares de origem animal são os que com maior frequência se infectam.

Na análise desses dados, são apontadas como causas mais frequentes de infecção humana, para além do contacto directo com os animais, a ingestão de produtos de origem animal, em especial a ingestão de leite e queijo não pasteurizados.

CAPÍTULO II

Brucelose Suína

2.1. Género *Brucella*

A brucelose, zoonose de importância mundial, com repercussão a nível económico e da Saúde Pública, é causada por organismos do género *Brucella*, bactérias Gram negativas muito relacionadas entre si, para o qual se reconhecem seis espécies (Corbel e Brinley-Morgan, 1982), com base em testes diferenciais e pela preferência do hospedeiro natural, segundo a classificação estabelecida pelo Sub-Comité de Taxonomia da *Brucella*, do Comité Internacional da Nomenclatura Bacteriológica:

- *Brucella melitensis* (Hughes 1893) - caprinos
- *Brucella abortus* (Schmidt 1901) - bovinos
- *Brucella suis* (Huddleson 1929) - suínos
- *Brucella ovis* (Buddle 1956) - ovinos
- *Brucella neotomae* (Stoenner e Lactiman 1957) - ratos do deserto
- *Brucella canis* (Carmichael e Brunner 1968) - canídeos

Para a identificação da *Brucella* utilizam-se vários testes que incluem a necessidade em CO_2, produção de H_2S, sensibilidade aos corantes, actividade ureásica e reacções com soros monoespecíficos (Corbel e Brinley-Morgan, 1982). A introdução de testes de sensibilidade à lise pelos fagos e de testes do metabolismo oxidativo permitiu resolver alguns problemas de identificação das espécies, assim como uma sistematização das mesmas, consistente com as evidências epidemiológicas (Corbel *et al.*, 1984).

Correntemente, a lise pelos fagos e os testes do metabolismo oxidativo são utilizados como meios primários de identificação ao nível de espécie e os testes convencionais para a diferenciação dos vários biovares (Corbel e Brinley-Morgan, 1982).

A classificação adoptada, feita exclusivamente à base de caracteres fenotípicos e pela preferência de hospedeiro natural, apresenta um grau de subjectividade muito controverso (Verger e Graynon, 1991). Estudos recentes da *Brucella* ao nível da biologia molecular, utilizando técnicas de clonagem e de sequência do genoma, permitiram um conhecimento mais profundo da estrutura genómica da *Brucella*, revelando a sua homogeneidade e o seu grau de polimorfismo interno dos ácidos nucleicos (Grimont *et al.*, 1992). Deste modo, tem sido considerada a possibilidade do género *Brucella* incluir uma única espécie genómica - *Brucella melitensis* - sendo as outras consideradas para designar os diferentes biovares, embora os epidemiologistas necessitem distinguir entre as espécies epidémicas (Verger e Graynon, 1991).

2.1.1. Biovares da *Brucella suis* e sua distribuição mundial

A *Brucella suis* apresenta uma distribuição mundial, embora a informação válida sobre a doença seja escassa ou mesmo inexistente em muitos países, segundo o Animal Health Yearbook (1990). Esta falta de informação, parece residir na inexistência de um sistema de vigilância adequado, como acontece em Portugal, que a par da Itália e Irlanda, são os únicos países da CEE a não possuir qualquer referência oficial à doença. Em grande parte dos países, a doença ocorre de forma esporádica, com grandes períodos de silêncio, por vezes limitada a certas regiões como acontece na Alemanha, na França, na Bélgica e mesmo em Espanha. Ocorre de forma enzoótica em algumas regiões dos E.U.A., na América Central e na América do Sul, na Ásia e nas Ilhas do Pacífico e ainda na

Europa Central. Na Austrália aparece associada unicamente aos suínos silváticos.

Na *Brucella suis* são actualmente reconhecidos cinco biovares (Alton *et al.*, 1988) (Figura 1):

- O biovar 1 é encontrado em todas as áreas onde se exploram suínos e onde a infecção ocorre de forma endémica (Ganiere, 1990).
- O biovar 2, ocorre normalmente associado às lebres, sobretudo na Europa do Norte e Central (Garniere, 1990).
- O biovar 3 parece limitado aos E.U.A., América do Sul, África e sul da Ásia (Ganiere, 1990). Este biovar foi isolado em roedores na Austrália (Aldrick,1968; Crichton e Medveczky, 1987).
- O biovar 4 é reconhecido como agente da brucelose nas regiões polares, tendo como hospedeiros naturais a rena e o caribú, sendo capaz de infectar o Homem, os canídeos e uma grande variedade de outros hospedeiros, não tendo sido implicada até ao momento, na infecção de suínos e sendo relatada com maior frequência na América do Norte e Sibéria (Meyer, 1966; Corbel *et al.*, 1984; Davis, 1989). Este biovar não difere substancialmente dos outros biovares de *Brucella suis;* no entanto, THOMAS e CORBEL (1982), levantaram algumas dúvidas quanto à sua classificação devido à susceptibilidade que apresenta à lise pelo fago Firenza (Fi), o que parece levar a pensar numa relação genómica com a *Brucella abortus,* assim como a sua preferência pelo hospedeiro natural, a patogenicidade experimental e o pH da actividade ureásica.
- O biovar 5 foi assinalado em pequenos roedores, na Rússia (Ganiere, 1990).

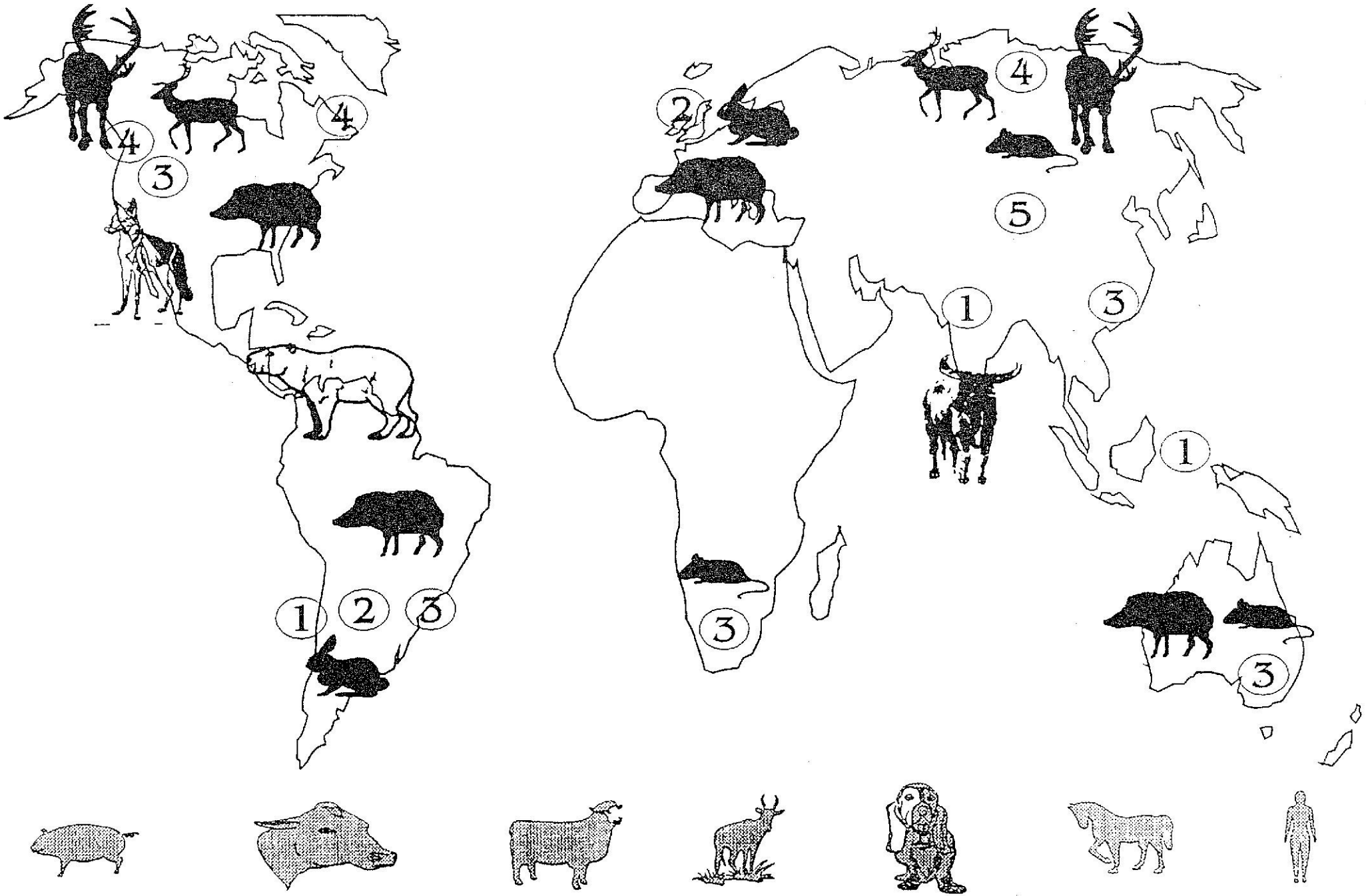
2.2. Brucelose suína

A brucelose suína é uma doença caracterizada por uma evolução crónica, com sintomas de aborto e infertilidade nas fêmeas, mortalidade embrionária, fetal e pós-natal e orquite nos machos.

2.2.1. Importância económica da brucelose suína

Nas explorações de suínos, a infertilidade, os abortos, o tamanho das ninhadas, o número de leitões ao desmame, o refugo precoce dos

Figura 1 - Distribuição geográfica dos biovares de Brucella suis e espécies animais associadas à infecção.



reprodutores, os gastos terapêuticos e com os Médicos Veterinários, traduzem-se em prejuízos para os suinicultores.

A presença de brucelose num efectivo suíno, em alguns países, obriga ao abate de todo o efectivo suíno da exploração, o que trás problemas adicionais resultantes das necessárias desinfecções, do vazio sanitário e sobretudo, do refazer de todo o efectivo. As indemnizações estabelecidas não cobrem esses prejuízos e geralmente são pagas tardiamente.

A transmissibilidade da doença ao Homem, para além das consequências para a saúde, pode funcionar como um factor psicológico para os consumidores, preterindo a carne de porco em relação a outro tipo de carne, levando a uma quebra nos rendimentos dos produtores.

2.2.2. Epidemiologia

A brucelose suína é hoje uma doença rara, de eclipses prolongados que tendo em conta a sua epidemiologia particular, se pode considerar acidental.

Entre os suínos, a susceptibilidade à infecção varia com a idade, sendo maior entre os adultos (Badiola, 1985; Finlay *et al.*, 1987). Embora a infecção antes do desmame não seja comum, os leitões podem infectar-se atingindo um título de aglutinação máximo entre a 8ª e a 12ª semana, desaparecendo aos seis meses (Blood *et al.*, 1983); segundo MANTHEL *et al.* (1952) podem infectar-se de forma permanente e transmitir a infecção a outros porcos receptivos. Após o desmame, a susceptibilidade aumenta em ambos os sexos, podendo algumas fêmeas que apresentem sorologia negativa à data de cobrição, vir a revelar a infecção após o parto ou o aborto (Nunn, 1981).

Os suínos infectam-se sobretudo por ingestão ou pelo coito. Embora a ingestão do alimento contaminado pelo sémen, pela urina e pelas descargas genitais das fêmeas infectadas seja comum, a localização da infecção nos orgãos genitais dos machos torna a transmissão venérea muito importante nesta espécie animal, sobretudo tendo em vista a possível introdução de varrascos infectados em explorações indemnes (Koller, 1960; Nunn, 1981; Blood *et al.*, 1983). A transmissão da infecção entre os efectivos faz-se essencialmente por meio das deslocações dos animais e pela sua introdução, quando infectados, em rebanhos indemnes (Nunn, 1981).

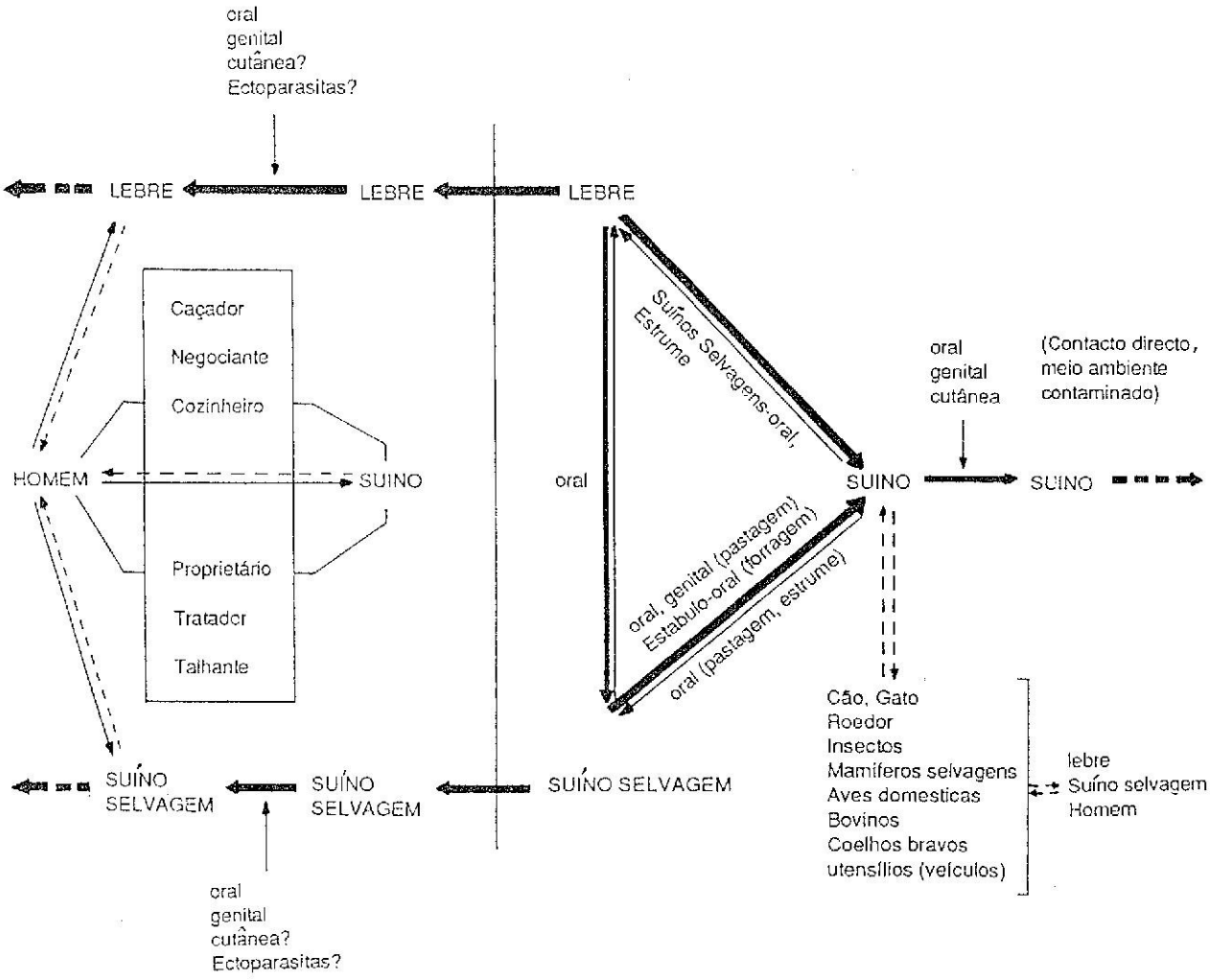
A infecção congénita pode ocorrer como consequência de uma infecção intra-uterina, mas a sua importância não foi ainda definida de forma

clara nos suínos.

Os leitões podem infectar-se pela ingestão de colostro e de leite, como resultado de uma invasão bacteriana do tecido mamário da mãe, não sendo no entanto tão comum como nos bovinos (Marchang e Ciocola, 1970; Wilson e Smith, 1984).

Embora seja do consenso geral que os hospedeiros primários de *Brucella* sejam os animais domésticos, outras espécies animais encontram-se envolvidas na transmissão da bactéria, embora o papel epidemiológico de algumas dessas espécies animais não esteja bem definido (Figura 2).

Figura 2 - Vias de infecção possíveis da *Brucella suis*, biovar 2



Adaptado de Von J. Dedek (1983)

Os suínos silváticos desempenham um papel importante na disseminação da *Brucella* entre os efectivos animais, funcionando como reservatório bacteriano para os suínos, sobretudo de *Brucella suis* biovar 1 (Zygmont *et al.*, 1982) e biovar 2 (Dedek, 1983). Porém, a sua importância epizootológica depende em larga medida do grau de contacto entre os suínos domésticos e os suínos silváticos, assim como com outras espécies animais reservatório.

Os carnívoros selvagens geralmente expõem-se pela ingestão das membranas fetais e mesmo de fetos das espécies pecuárias; o seu papel na disseminação da *Brucella* não tem sido considerado muito importante, embora sejam considerados como excelentes sentinelas da presença de infecção numa determinada área (Davis, 1989). No entanto, os cães domésticos têm sido responsabilizados pelo surgimento da infecção brucélica em suínos (Kormendy e Nagy, 1982).

As lebres, por outro lado, desempenham um papel epidemiológico muito importante como reservatório de *Brucella suis* biovar 2, contaminando as pastagens onde os suínos se encontram ou refugiando-se entre os alimentos destes animais nos períodos de Inverno (Dedek, 1983). Muitas vezes, a *Brucella suis* biovar 2 é isolada em regiões onde se desconhece a presença de brucelose em suínos, pelo que as lebres têm sido utilizadas em projectos piloto como sentinelas de infecção para os suínos (Frye *et al.*, 1982).

As moscas podem igualmente ser responsáveis pela disseminação de *Brucella*, embora CHEVILLE *et al.* (1982) tenham verificado que a *Brucella* não se multiplica no interior da *Musca automnalis*. Os artrópodes têm vindo a assumir uma importância epidemiológica cada vez maior, sendo considerados como responsáveis pelo aparecimento de alguns casos de infecção brucélica (Tovar, 1947; Peres *et al.*, 1981; Godoy *et al.*, 1985). COOK *et al.* (1966), conseguiram isolar *Brucella suis* de ratos na Austrália, mas consideraram esta espécie como um "fundo de saco", pelo que a transmissão da infecção aos suínos só poderia ter lugar pela ingestão dos ratos infectados.

Embora o papel daquelas espécies animais na disseminação da doença possa ser posto em causa, elas devem ser consideradas na adopção de medidas de controlo, tendo em conta que a origem da infecção no Homem e nos animais é por vezes difícil de explicar, principalmente quando a prevalência da doença é baixa.

Segundo BLOOD *et al.* (1983), os efeitos da doença tendem a atenuar-se e mesmo a desaparecer à medida que se desenvolve um estado imunitário, após um surto agudo, embora a infecção se possa estabelecer

de novo na exploração. De qualquer forma a doença vai-se atenuando, dado que alguns animais se curam espontâneamente e a maior parte dos outros é abatido durante o curso normal de produção. Nas grandes explorações, a infecção pode persistir, evoluindo na forma crónica no adulto e reaparecer numa forma aguda em gerações posteriores (FAO/ OMS, 1986).

Todos os animais infectados, aparentemente sãos, constituem uma potencial fonte de infecção de *Brucella* para o efectivo da exploração. Estes animais podem manter-se portadores durante toda a sua vida, podendo não ser detectados por qualquer dos testes sorológicos, razão pela qual, os animais infectados devam manter essa classificação definitivamente, sobretudo quando o diagnóstico utilizado fôr feito por sorologia.

2.2.2.1. A intertransmissibilidade das espécies de *Brucella*

Apesar das espécies de *Brucella* diferirem na frequência com que infectam um hospedeiro particular e no seu grau de preferência de hospedeiro, muitas espécies de *Brucella* podem causar infecção natural em diferentes espécies animais e no Homem.

A brucelose nos suínos está normalmente associada aos biovares 1, 2 e 3 de *Brucella suis*. As infecções causadas por outras espécies de *Brucella* têm sido relatadas, mas muitas vezes a evidência de uma identificação específica, não se mostrou clara. A evidência experimental para demonstrar a capacidade de outras espécies estabelecerem a infecção em suínos é muito limitada e muitos estudos foram estabelecidos sob condições insatisfatórias, com resultados inconclusivos, mesmo polémicos em alguns casos.

Segundo MEYER (1964), quando uma espécie de *Brucella* se estabelece num hospedeiro que não o preferencial, usualmente a bactéria tem tendência para se fixar ao nível dos gânglios linfáticos, no tecido mamário e nos orgãos do sistema reticulo-endotelial, melhor do que no útero e nas membranas fetais. De um modo geral, os suínos infectados por outra espécie de *Brucella*, que não a *Brucella suis*, não desenvolvem sintomatologia aparente de doença, sendo a infecção eliminada em média ao fim de 60 dias (Deyoe, 1981).

A *Brucella abortus* tem sido relatada como capaz de estabelecer, uma bacteriémia transitória com localização ganglionar, sendo invariavelmente eliminada entre 15 a 20 semanas (Stuart *et al.*, 1987), embora não seja

considerada como patogénica para os suínos, ocorrendo de forma ocasional (Washko *et al.*, 1951; Blood *et al.*, 1983). STUART *et al.* (1987), isolaram *Brucella abortus* nos orgãos genitais de suínos não reprodutores, inoculados experimentalmente por três vias (conjuntival, subcutânea e endovenosa), não tendo sido excluida a possibilidade da excreção urinária da bactéria. Assim, as descargas vaginais e urinárias de suínos infectados, podem contaminar o meio ambiente, aumentando o risco de infecção para as outras espécies animais e para o Homem.

A susceptibilidade dos suínos à *Brucella melitensis* tornou-se difícil de entender , desde que, com a utilização dos testes do metabolismo oxidativo, se observou nos E.U.A. que a bactéria comumente identificada como *Brucella melitensis* correspondia de facto à *Brucella suis* biovar 3 (Meyer e Cameron,1963; Crichton e Medveczky, 1987). No entanto, há trabalhos que referem o isolamento de *Brucella melitensis* em suínos (Hillebrabd, 1950; Hubbard e Horlein, 1952; Yantzis e Kastadinou, 1990).

SZYFRIS (1951) WASHKO *et al.* (1951) e MANTHEL *et al.* (1952), sugerem que a frequência de *Brucella melitensis* e *Brucella abortus* em suínos é muito mais elevada do que se pode crer. No entanto, é conhecida a resistência dos suínos à infecção brucélica, pelo que têm tendência a limitar a infecção por essas duas bactérias a um ou outro animal, dentro do mesmo efectivo (Duee, 1982). No entanto, a possibilidade de infecção por essas duas espécies de *Brucella* não deve ser esquecida pelos programas de vigilância sanitária.

Igualmente se verifica a transmissão da *Brucella suis* a outras espécies animais. Nos equinos, ela é responsável por uma bursite e eventualmente aborto (Cook e Kingston, 1988). Nos cães tem sido reportada com certa frequência, podendo provocar uma orquite nos machos e aborto nas cadelas (Miranda *et al.*, 1978; Harrington e Brown, 1976; Kormendy e Nagy, 1982 ; Corrêa *et al.* 1984). A transmissão aos bovinos ocorre na natureza embora não seja muito comum (Washko *et al.*, 1948; Cook e Noble, 1984). Os bovinos infectados apresentam títulos aglutinantes transitórios, não havendo evidência de aborto (Norton e Thomas, 1979). Ocasionalmente a infecção pode atingir o tecido mamário, podendo a *Brucella* ser posteriormente isolada no leite de vaca e com desenvolvimento de uma mamite com carácter agudo (Corner *et al.*, 1987). O isolamento de *Brucella suis* nos pequenos ruminantes foi igualmente relatado por MEYER (1964) e por HELLMANN (1982), este citado por DEDEK (1983).

2.2.2.2. Viabilidade da *Brucella*

Num ambiente natural, a sobrevivência da bactéria estará dependente das condições de temperatura, humidade, luminosidade, arejamento, presença de matéria orgânica, pH e presença de outros microrganismos (Alton e Gulasekaram, 1974). Segundo RAY (1979), a *Brucella suis* parece ser mais resistente às condições adversas do que a *Brucella abortus*.

São bactérias muito sensíveis ao calor, não sobrevivendo a temperaturas superiores a 60° C, sendo necessárias temperaturas de 80° C para garantir uma esterilização (Corbel e Brinley-Morgan, 1984). São igualmente muito sensíveis à acção directa da luz solar, podendo sobreviver 2 a 3 meses na obscuridade, sendo resistentes à dissecação se esta for gradual. Na pastagem, em função da época do ano, podem sobreviver até pelo menos 250 dias quando a coberto das folhas, mas não resistindo mais que 8 dias na água se a temperatura fôr de 12° C. Resistirá mais tempo se a água estiver a uma temperatura de 25 a 37° C, e alguns meses se a temperatura estiver entre os 4 e os 8° C. A temperaturas de refrigeração, em ambientes húmidos e na ausência de luz solar directa, as possibilidades de resistência serão muito maiores (Ray, 1979). No estrume podem sobreviver alguns meses, até 75 dias nas fezes húmidas, mas morrendo rapidamente nas estrumeiras como resultado da acção do calor libertado das fermentações (Ray, 1979) .

São relativamente sensíveis aos desinfectantes, não resistindo mais que 15 minutos ao fenol a 1%, sendo o hipoclorito de sódio, amónio quaternário e a formalina, igualmente eficazes (Alton *et al.*, 1988).

2.2.3. Patogenia

A patogénese da brucelose depende da virulência da estirpe, da dose infectante, da via de infecção, assim como da susceptibilidade e idade do hospedeiro infectado.

Após a entrada num hospedeiro susceptível, a *Brucella* é transportada por células fagocitárias ou circulará livremente até aos gânglios linfáticos regionais, estes normalmente associados ao local de entrada da bactéria, onde ocorre uma inflamação local com hipertrofia ganglionar (McEntee, 1970). Se o microrganismo não se confinar aos gânglios, a disseminação a outros orgãos ocorre por via sanguínea ou linfática, cerca dos 60 a 90 dias após a infecção, com uma fase de bacteriémia transitória, persistindo

em média 5 semanas, geralmente de forma contínua, pelo que se torna possível obter hemoculturas positivas durante esse período (Deyoe, 1981; Ganiere, 1990). A bacteriémia pode persistir posteriomente por largos períodos de tempo, normalmente de forma intermitente (Ray, 1979; Deyoe, 1981).

O poder patogénico da *Brucella* está associado à sua virulência e ao seu poder tóxico. Trata-se de uma bactéria intracelular facultativa, capaz de se multiplicar no interior das células, com preferência pelas células fagocitárias. O seu poder tóxico está associado a uma toxina próxima das produzidas pelas enterobacteriáceas, que segundo RICHTSTEL e BRADE (1992), se relaciona quase exclusivamente ao lípido A da camada lipopolissacarídica (LPS) da superfície celular, na membrana externa da bactéria, embora RAYBOULD (1982) tenha atribuído essa actividade aos epítotos A e M, localizados na cadeia polissacarídica da LPS.

Segundo DUBRAY *et al.* (1991), em função da porta de entrada da *Brucella*, os mecanismos de defesa imunitária podem diferir. Antes do estabelecimento da defesa imunitária específica, a bactéria confronta-se com as barreiras mecânicas do organismo, constituidas pela pele e pelas mucosas. A ingestão da bactéria pelas células fagocitárias, após a sua entrada no hospedeiro, facilita a disseminação do microrganismo, protegendo-a ao mesmo tempo da acção das actividades bactericidas desenvolvidas pelos anticorpos e pelo complemento. A sobrevivência da *Brucella* no interior das células fagocitárias, parece resultar da inibição da actividade metabólica oxidativa da célula infectada, não sendo possível a actuação dos produtos do sistema enzimático antibacteriano da mieloperoxidase-peróxido de hidrogénio-iões halogénios, impedindo-se, desse modo, a destruição da bactéria (Thoen e Enright, 1986; Canning, 1989). A desgranulação e subsequente libertação dos enzimas dos lisossomas, são suprimidas pela presença da bactéria, provavelmente devido à existência de 5-guanina- monofosfato e adenina na superfície celular (Canning *et al.*, 1985).

Quer a resposta imunitária humoral quer a resposta imunitária mediada por células, participam no mecanismo protector do hospedeiro face à infecção, através de um efeito combinado de ambas as respostas (Winter, 1989). No entanto, SUTHERLAND (1980), realça o facto da resposta celular ocorrer concorrentemente com a resposta humoral, mas independente desta.

Os anticorpos não parecem desempenhar um papel importante na defesa do organismo, apesar da acção estimulante que produzem sobre

os macrófagos (Deyoe, 1972; Sutherland, 1980; Winter, 1989). A defesa imunitária específica resulta da acção de células timo dependentes, os linfocitos T, capazes de produzir mediadores que estimulam os macrófagos na sua acção fagocitária e de destruição bacteriana (Smith III, 1989; Winter, 1989 ; Dubray *et al.*, 1991). KANEENE *et al.* (1978), encontraram uma grande correlação entre o isolamento da *Brucella* nos tecidos de suínos infectados e a resposta imunitária mediada por células, correlação que não se verificava em relação aos anticorpos do soro. Segundo DUBRAY (1991), o sistema complemento pode inactivar a *Brucella* na sua fase extracelular da infecção.

A resistência natural à infecção pela *Brucella* é reconhecida há muito tempo nos suínos (Cameron *et al.*, 1942; Duee, 1982; Templeton e Adams, 1989), conferindo à infecção o seu carácter limitado. A maioria dos suínos recupera da infecção, sobretudo os mais jovens (Manthel *et al.*, 1952), e uma nova infecção terá um carácter mais limitado, não parecendo que os suínos sejam então, tão susceptíveis à infecção (Hutchings *et al.*, 1946). De acordo com TEMPLETON e ADAMS (1989) e DUBRAY *et al.* (1991), a resistência à infecção brucélica está relacionada com a sua capacidade de sobrevivência no interior das células fagocitárias. Existe um conteúdo genético no hospedeiro, que regula este tipo de imunidade celular e que parece estar ligado a um pequeno número de genes (Templeton e Adams, 1989). Estudos relatados por TEMPLETON e ADAMS (1989), referem que a resistência dos suínos à *Brucella suis* pode aumentar 53 % de uma geração para outra.

Durante a fase de bacteriémia, a *Brucella suis* vai instalar-se numa grande variedade de orgãos, ao contrário do que acontece com a *Brucella abortus* (Thoen e Enright, 1986), onde cresce e se multiplica, dando origem a lesões granulomatosas, associadas à resposta celular mediada pelas células timo dependentes, que originam uma reacção do tipo de hipersensibilidade retardada (Sutherland, 1980). Nos animais adultos, a localização faz-se nos orgãos genitais de ambos os sexos e na glândula mamária da fêmea, embora sem a predilecção marcante que a *Brucella abortus* demonstra para esses orgãos (Blood *et al.*, 1983), mas envolvendo frequentemente os ossos e as articulações, assim como a formação de abcessos (Jones e Hunt, 1983).

Nos jovens suínos a infecção fica normalmente confinada aos gânglios linfáticos associados à porta de entrada da bactéria (Hutyra *et al.*, 1973; Nunn, 1981).

2.2.4. Sintomatologia

A sintomatologia clínica da brucelose em suínos é, de um modo geral, escassa e não conclusiva. Quando introduzida pela primeira vez numa exploração, a infecção pode revestir-se de carácter agudo (FAO/ OMS, 1986). Em rebanhos com uma alta incidência de reactores nos testes sorológicos pode ser observada apenas uma pequena evidência clínica.

A primeira indicação da existência da doença é dada pelo registo de aborto, geralmente menos frequente nos suínos que nos bovinos. Pode ocorrer ao longo de toda a gestação, sendo mais frequente no último mês (Blood *et al.*, 1983; Ganiere, 1990). Quando a infecção ocorre após a cobrição, não há interferência com a fertilização, embora WALTON (1992) refira que a infecção afecta sobretudo a concepção e o aborto surge então relativamente cedo, muitas vezes sem descargas vaginais, podendo passar despercebido ao proprietário (Navarrete 1979; Nunn, 1981). Frequentemente, as porcas gestantes fazem novo cio 30 a 45 dias após a cobrição, devendo ser investigado a possível ocorrência de aborto (Deyoe, 1981). Em outros casos, a porca leva a gestação até final parindo um número reduzido de leitões (Walton, 1992).

Devido à placentação individual, nem todos os fetos são necessariamente afectados. A gestação pode ser de termo, observando-se na mesma ninhada a presença de fetos de termo, leitões débeis e leitões normais, associados a nado-mortos ou a fetos mumificados. A taxa de mortalidade entre os leitões pode ser elevada durante os primeiros dias que se seguem ao nascimento (Nunn, 1981).

Os abortos são normalmente acompanhados de descargas vaginais sanguinolentas e por vezes purulentas, podendo ser acompanhadas de retenção placentária, embora não seja tão comum como acontece nos bovinos (Navarrete, 1979; Ganiere, 1990). Quando as porcas regressam à cobrição, pode haver dificuldades na fertilização e como consequência, mortalidade embrionária. Algumas fêmeas recuperam totalmente, mas a infecção pode persistir (Jones e Hunt, 1983). Na maioria das porcas, a depuração intra-uterina da bactéria verifica-se 30 dias após o aborto ou o parto; no entanto, DEYOE (1981) detectou porcas a eliminar a bactéria ao fim de 30 meses, pós-infecção.

É comum observar-se o aparecimento de linfadenites, sobretudo na região da cabeça e do pescoço, de artrites e arrastamento dos membros posteriores, situação que pode evoluir para uma paralisia consequente

ao desenvolvimento de uma osteomielite (Ray, 1979; Nunn, 1981). Igualmente observa-se frequentemente abcessos múltiplos subcutâneos, com relativa incidência na zona do pescoço em suínos infectados (Kumar *e* Rao, 1980).

Nos machos, é característico o aparecimento de orquite, frequentemente unilateral, acompanhada de epididimite, persistindo o apetite sexual (Koller, 1960; Kumar e Rao, 1980). A *Brucella suis* pode ser eliminada com o sémen durante largos períodos de tempo (Thoen e Enright, 1986).

Nos leitões, a infecção tem geralmente um carácter transitório, frequentemente sem sintomatologia aparente, recuperando da infecção rapidamente (Kumar e Rao, 1980).

2.2.5. Lesões

A *Brucella suis* tem tendência a fixar-se num grande número de orgãos durante a fase de bacteriémia, dando origem a lesões granulomatosas e à formação de abcessos. Localiza-se nos orgãos genitais de ambos os sexos, nos gânglios linfáticos, no baço, no fígado, no rim, nos pulmões, na bexiga, no esqueleto em geral, nas articulações e eventualmente no cérebro.

Os machos, desenvolvem orquites com abcessos localizados no testículo e no epidídimo, envolvendo posteriormente as glândulas anexas e a próstata (Wilson e Smith, 1984).

Nas fêmeas, podem observar-se lesões de endometrite e metrite, sendo frequente a ocorrência no útero não grávido a denominada "Brucelose miliar aguda", em que a parede do útero aparece coberta de numerosos nódulos granulomatosos, amarelo-esbranquiçados, bem definidos, do tamanho da cabeça de um alfinete, fazendo uma protuberância à superfície da mucosa uterina. Estes nódulos podem fundir-se em placas, surgindo posteriormente focos caseosos que podem ulcerar (McEntee, 1970; Nunn, 1981; Ganiere, 1990). Segundo GANIERE (1990), estas lesões podem curar espontâneamente, deixando cicatrizes. A placentação mantêm-se viável, ficando no entanto, limitada às zonas não invadidas pelo tecido cicatricial, dando origem à parição de ninhadas reduzidas.

Os fetos abortados revelam degenerescências várias, hemorragias e lesões que afectam sobretudo os intestinos, o baço e o fígado. Observam-se eritemas, hemorragias e edema subcutâneo, com maior evidência na região umbilical. A placenta surge coberta por um exsudado amarelo-

acastanhado, com algumas àreas hemorrágicas. A cultura de *Brucella* é feita com maior sucesso a partir dos cotilédones, do conteúdo estomacal e dos vários orgãos do parênquima fetal, nomeadamente fígado e baço (Leon-Vizcaíno *et al.*, 1976).

As articulações, numa fase inicial, apresentam uma ligeira inflamação da sinóvia, dando lugar a uma reacção purulenta ou fibropurulenta que resulta na deformação da articulação, conduzindo a uma anquilose e afectando sobretudo os membros posteriores (Hutyra *et al.*, 1973; Wilson e Smith, 1984; Ganiere, 1990).

Os ossos são frequentemente afectados, observando-se a existência de abcessos, sobretudo ao nível das vértebras lombares e sagradas, evoluindo para uma atrofia do corpo das vértebras, podendo ser acompanhada de osteomielite. Posteriormente, pode produzir-se a destruição das cartilagens, com roturas vertebrais e compressão medular, e uma reacção supurativa que pode afectar as meninges (Hutyra *et al.*, 1973).

No baço, podem desenvolver-se múltiplos nódulos subcapsulares, muitas vezes sem outra lesão no organismo animal, com um diâmetro de 4 mm, esbranquiçados, com um centro caseoso e por vezes calcificados, produzindo uma ligeira atrofia do tecido subjacente e projectando-se para o exterior. Para ANDERSON e DAVIS (1957), esta lesão pode ser encarada para o diagnóstico presuntivo de brucelose suína, embora não possa ser considerada como patognomónica.

Surgem por vezes abcessos peri-renais, que LANNEGGER *et al.* (1972), relacionaram com a infestação por *Stephanurus dentatus*. No tecido subcutâneo podem igualmente aparecer abcessos; HUBBARD e HORLEIN (1952), relatam a sua ocorrência sobretudo na região do pescoço.

Microscópicamente, as lesões caracterizam-se por áreas de necrose, por vezes com um núcleo caseoso que pode calcificar, com grande acumulação de macrófagos, neutrófilos, células histiocitárias e epitelióides, mas sem a presença de células gigantes, ou em pequeno número, o que permite estabelecer um diagnóstico diferencial com a tuberculose (McEntee, 1970; Hutyra *et al.*, 1973).

2.2.6. Diagnóstico

O diagnóstico da brucelose é feito essencialmente pela cultura bacteriológica e pela sorologia, tendo em conta um diagnóstico clínico pouco ou nada conclusivo.

O isolamento bacteriológico é indispensável para a identificação do agente em causa, para a definição da espécie e biovar implicados na infecção, de modo a obter-se uma avaliação precisa do estado epidemiológico e sanitário dos efectivos de uma determinada região.

O isolamento bacteriológico da *Brucella* torna o diagnóstico irrefutável. No entanto, a sua utilização como método de rotina torna-se inconveniente, uma vez que obriga à colheita de um grande número de orgãos, requisita muito material, é muito moroso e nem sempre bem sucedido, não garantindo a ausência de infecção se não houver isolamento bacteriano. Por outro lado, a obtenção de material a partir de animais vivos, nem sempre se torna viável, o que limita a sua utilização quase exclusivamente aos animais mortos.

Deste modo, tem-se recorrido preferencialmente ao diagnóstico sorológico, sobretudo no decorrer de campanhas de controlo e erradicação da brucelose animal, em que o número de animais a controlar é muito grande.

Durante as últimas décadas, foram desenvolvidos numerosos estudos sobre os antigéneos brucélicos, com ênfase para a selecção de componentes antigénicos que permitam o melhoramento do diagnóstico sorológico, embora esses estudos tenham sido desenvolvidos com predominância na espécie bovina.

Embora um grande número de testes sorológicos tenha sido desenvolvido para o diagnóstico da brucelose, nenhum parece ser ideal, fácil e rápido de executar, possível de ser utilizado em grandes amostragens, de baixo custo, capaz de detectar os animais infectados nos vários estados de evolução da doença, incluindo os portadores latentes e os portadores crónicos silenciosos, e que simultâneamente possam distinguir os animais infectados naturalmente dos vacinados.

O envelope celular da *Brucella* é composto por uma membrana citoplasmática interna, envolvida por uma camada de peptidoglican associada à membrana externa da bactéria. Segundo SOWA (1989), a sobrevivência da bactéria depende da integridade da parede celular que, uma vez alterada, é facilmente destruída. Assim, a actividade humoral é essencialmente dirigida para a superfície celular.

Foram identificados na superfície da bactéria, um complexo lipopolissacárido (LPS) e dois polissacáridos: o nativo hapteno (NH) e o polissacárido B (poly B), assim como, pelo menos, mais de vinte proteínas ou complexos proteicos envolvidos nas reacções antigénio-anticorpo (FAO/OMS, 1986).

O complexo LPS constitui o maior antigénio detectável pelos testes

clássicos, a Aglutinação Lenta em Tubo, o Rosa Bengala e a Fixação do Complemento (Alton *et al.*, 1988). É constituido básicamente por fósforo, pelo lípido A e por uma cadeia polissacarídica específica. O fósforo encontra-se na extremidade proximal da membrana externa, enquanto na extremidade distal se encontra o lípido A ligado à cadeia polissacarídica por um "core" oligossacárido (Sowa, 1989).

A cadeia polissacarídica faz saliência na membrana da célula bacteriana e tende a ser específica, parecendo ser responsável pelo desenvolvimento da resposta imune específica. Dois determinantes antigénicos foram identificados nesta cadeia, nas espécies de *Brucella* de colónia lisa: o determinante A expresso na *Brucella abortus*, e o determinante M expresso na *Brucella melitensis* (Bundle *et al.*, 1987). Estes determinantes expressam-se de forma quantitativa diferente nas várias espécies de *Brucella* de colónia lisa (Dubray e Limet, 1987). A *Brucella suis* possui quantidades semelhantes de ambos os determinantes antigénicos.

As diferenças antigénicas são limitadas entre as espécies do género *Brucella*, o que torna possível a utilização de soros monoespecíficos anti-A e anti-M na identificação dos diferentes biovares. Da mesma forma, a preparação de antigéneos pode ser feita a partir de qualquer das bactérias de colónia lisa, embora se utilize normalmente nos testes sorológicos, antigéneos preparados a partir de células de *Brucella abortus*. (Alton *et al.*, 1988).

Nas colónias de *Brucella* na fase rugosa, foi evidenciado um determinante antigénico R ao nível da cadeia LPS-R, no lugar dos determinantes A e M da cadeia LPS-L, pelo que os antigénios preparados para o diagnóstico sorológico das espécies de colónia lisa não podem ser utilizados no diagnóstico sorológico das espécies de colónia rugosa (Alton *et al.*, 1988).

As diferenças entre os testes clássicos utilizados no diagnóstico sorológico da brucelose, estão basicamente ligadas à detecção dos anticorpos maiores, associados às imunoglobulinas séricas (Argote, 1970; Wright e Nielsen, 1990) (Quadro nº 4).

Quadro 4 - Detecção de Imunoglobulinas após infecção brucélica

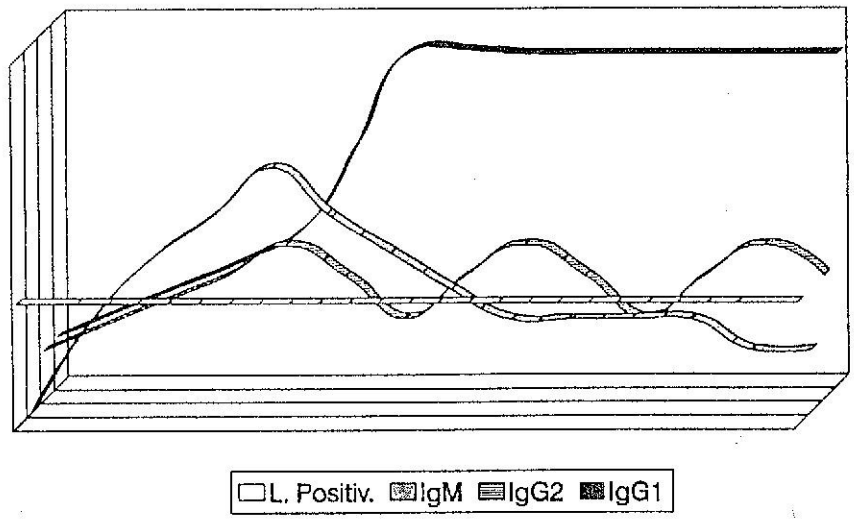
Teste utilizado	IgM	IgG_1	IgG_2	IgA
Aglutinação Lenta em Tubo	+++	+ (zona?)	+	+
Fixação do Complemento	+ (?)	+++	(zona?)	
Rosa Bengala	+	+++		

Adaptado de Vallete, L. (1985)

Registam-se diferenças de propriedades entre as classes e sub-classes de Ig detectadas, assim como o seu grau de participação, dependendo da espécie animal e do estado de evolução da doença, tornando-se difícil extrapolar de uma espécie para outra (Jones e Hunt, 1983). A resposta imunitária depende ainda de outros factores, como sejam, a natureza do estímulo antigénico e o estado imunitário do animal (Sutherland, 1980).

As IgM são detectáveis no soro em primeiro lugar, embora as IgG ocorram rapidamente, com predominância das IgG_1 sobre as IgG_2, estas muito variáveis (Sutherland, 1980) (Gráfico nº 1), aumentando com a idade do animal e no pós-parto, estando este aumento relacionado com a passagem de grandes quantidades de IgG_1 para o colostro (Ganiere, 1990). A flutuação que se observa na concentração sérica de IgG_2, torna por vezes a sua detecção impossível pelos testes clássicos, embora de forma transitória.

Gráfico 1 - Imunoglobulinas detectáveis no soro, pós-infecção, ao longo do tempo



A presença de IgM no soro a testar, geralmente indica uma infecção recente, mas a presença de IgG pode reflectir o envolvimento com um antigéneo no passado. A concentração da IgM tende a diminuir progressivamente, pelo que num estado avançado da doença, a principal Ig detectada é a IgG (Sutherland, 1980; Moreira *et al.*, 1988).

De um modo geral, os testes clássicos apresentam um limite inferior de detecção de anticorpos muito alto. A especificidade e a sensibilidade dos testes são limitados, pelo facto de detectarem com maior facilidade as IgM, de menor especificidade antigénica. Em algumas ocasiões não é detectada nenhuma resposta humoral ou são detectadas respostas

inespecíficas, confundindo a interpretação dos resultados obtidos. Estas reacções são atribuídas a reacções cruzadas entre as espécies de *Brucella* de colónia lisa e outras bactérias com estrutura antigénica similar. Esta relação antigénica é atribuída ao complexo LPS-L, ao nível de derivados N-acil das unidades da 4-amino-4,6 dideoxi-D-manopiranose da cadeia polissacarídica, comum às bactérias envolvidas neste tipo de reacção.

Entre as bactérias mais estudadas, responsáveis por reacções cruzadas com *Brucella*, está a *Yersínia enterocolitica* 0:9 (Mittal e Tizard, 1981; Das, 1985). Muitas outras bactérias têm sido implicadas neste tipo de reacção, muitas vezes limitadas a alguns biovares. Na maioria dos casos, o estudo deste tipo de reacção tem sido feito apenas experimentalmente, não se sabendo o seu comportamento numa infecção natural.

A utilização de vários testes aumenta a confiança dos resultados, e a sequência dos testes no tempo permite uma interpretação mais correcta dos valores obtidos. Nos suínos, os testes convencionais parecem dar melhores resultados quando utilizados como testes de rebanho do que quando utilizados de forma individual, uma vez que é comum o aparecimento de um grande número de reacções heteroespecíficas nesta espécie animal, em animais não infectados (Brinley-Morgan *et al.*, 1969; Argote, 1970; Das e Mukerjee, 1986 ; Rogers *et al.*, 1989). MOREIRA *et al.* (1988), realça a importância dos testes sorológicos poderem ser complementarizados com dados epidemiológicos do rebanho, facilitando a interpretação dos resultados obtidos por esses testes.

A baixa sensibilidade que estes testes apresentam, quando aplicados aos suínos, relaciona-se com a baixa imunogenecidade de algumas estirpes de *Brucella suis*, períodos de incubação muito prolongados após a exposição à dose mínima infectante e ainda, aos vários graus de doença que se observam nas explorações infectadas (Brewer et al, 1983; Stuart *et al.* 1987; Rogers *et al.* 1989).

O teste da Aglutinação Lenta, foi durante muitos anos usado no diagnóstico sorológico da brucelose, sobretudo em campanhas de controlo e erradicação, nas diferentes espécies animais, incluindo os suínos.

Porém, ALTON *et al.*, (1988) referem que este teste tem demonstrado pouca sensibilidade e especificidade no diagnóstico da brucelose quando comparado com outros, pelo que o seu uso tem vindo a ser abandonado. É um teste que avalia a quantidade total de imunoglobulinas do soro (IgM, IgG e IgA), embora medindo a IgM com maior eficiência. Expressa-se em U.I/ml, sendo os resultados classificados como negativos, duvidosos e positivos.

Apresenta limitações no diagnóstico da infecção nas fases iniciais do período de incubação e nos estados crónicos da doença. Segundo SUTHERLAND (1980), são observados fenómenos de prozona associados à presença de grandes quantidades de IgG_1, assim como de anticorpos incompletos. Igualmente se registam reacções resultantes da presença de aglutininas inespecíficas, dando origem ao aparecimento de resultados falsos positivos.

O teste do Rosa Bengala tem sido considerado um bom teste para o diagnóstico da brucelose suína, dado a simplicidade de execução, o baixo custo e o facto de permitir a sua utilização em larga escala. Nos suínos tem demonstrado apresentar uma boa sensibilidade e uma boa especificidade. Os resultados expressam-se como positivos e negativos, não sendo possível quantificar a aglutinação.

O antigéneo utilizado neste teste, é uma suspensão de células de *Brucella abortus* a 8%, corada pelo Rosa Bengala, e tamponado a pH 3,65. CORBEL (1973), verificou que o corante não intervem na reacção, pelo que esta depende apenas do pH. A este pH, as IgM são inibidas, pelo que apenas se detectam as IgG_1. No entanto, a detecção das IgM a este pH é alvo de alguma controvérsia, segundo MORRIS (1982).

A sensibilidade das reacções sorológicas é grandemente influenciada pela temperatura a que são verificadas, pelo que o reagente a utilizar no teste do Rosa Bengala deve estar à temperatura ambiente antes de ser utilizado, cerca de 22° C.

O teste da Fixação do Complemento é considerado, segundo ALTON *et al.* (1988), como muito sensível e o mais específico no diagnóstico da brucelose animal. Nos suínos tem demonstrado uma sensibilidade muito inferior ao teste do Rosa Bengala, mas com uma maior especificidade.

De acordo com os trabalho de ALLAN *et al.*, (1976), as IgM fixam melhor o complemento que as IgG_1, enquanto as IgG_2 que não fixam o complemento, podem ser responsáveis por fenómenos de prozona nesta prova. No entanto, durante a inactivação do complemento residual do soro, as IgM são inactivadas pelo calor, sendo apenas detectáveis as IgG_1.

É um teste útil para diferenciar as reacções duvidosas na Aglutinação Lenta em Tubo e as reacções vacinais das infecções naturais. Os títulos nesta prova não tendem a diminuir quando a doença evolui para a cronicidade, embora sejam detectadas igualmente reacções inespecíficas. Têm-se verificado falhas na detecção de portadores latentes e no período que se segue ao aborto ou o parto normal (Nunn, 1981).

É uma técnica muito laboriosa e depende de produtos biológicos que limitam a sua utilização como teste de rotina. A proporção dos reagentes (complemento, hemolisina, glóbulos vermelhos e diluente) deve ser cuidadosamente balanceada para se obter resultados credíveis. Deve ser determinado se o antigénio a utilizar ou o soro teste são capazes de destruir o complemento, dando origem a reacções anticomplementares (AAC). Se o soro estiver hemolisado, pode haver dificuldades na interpretação dos resultados (Morris, 1982). A positividade do soro é verificável pela ausência de hemólise no soro teste, dependendo da presença ou não do complemento no soro.

2.2.7. Métodos de controlo e erradicação

A aplicação de vacinas nos suínos não têm demonstrado ser tão eficiente como quando aplicada aos ruminantes. As vacinas testadas foram capazes de provocar alguma protecção, embora débil e transitória, sem prevenir no entanto a infecção intra-uterina, embora a sua aplicação possa em alguns casos ter resultado numa diminuição da incidência de abortos (Deyoe, 1972 ; Bagnat, 1980).

Em geral, a luta contra a brucelose confronta-se com grandes dificuldades na ausência de um método que permita formar rapidamente uma opinião objectiva sobre a situação epidemiológica numa dada exploração infectada, com disseminação da infecção antes de se precisar a situação.

Alguns países adoptaram uma política de teste e abate, tendo obtido bons resultados. Em alguns casos, o abate abrange todo o efectivo, com a repopulação a partir de efectivos indemnes, após a desinfecção e um período de vazio sanitário das explorações.

Tal como nos bovinos, o maneio reprodutivo é fundamental para o controlo e erradicação da brucelose, sobretudo durante a cobrição e o parto, pontos cruciais para a disseminação da bactéria dentro da exploração (Hubbard e Horlein, 1952; Leon-Vizcaíno *et al.*, 1976; Kumar e Rao, 1980). ROGERS *et al.* (1989), referem que a eliminação da brucelose suína poderá ser atingida parcialmente, apenas com a melhoria do maneio das explorações, mais do que com a eficiência dos testes sorológicos.

As exigências de higiene começam pelos interesses profissionais, pelo que os agentes sanitários devem ter em conta o aspecto económico do problema, uma vez que as medidas higiénicas a preconizar, devem ter como objectivo, melhorar o rendimento da exploração, pelo que essas medidas não devem perturbar a cadeia de produção.

A restrição ao movimento interno dos animais e às importações, é fundamental para a manutenção das áreas indemnes (Alexander, 1981 ; Finlay *et al*, 1987) e regra adoptada pelos países que adoptaram sistemas de vigilância adequados, como se pode registar no Animal Yearbook da FAO (1990).

2.2.8. Brucelose humana

Das seis espécies reconhecidas actualmente para o género *Brucella*, apenas a *Brucella melitensis*, a *Brucella abortus* e a *Brucella suis* parecem ter uma importância real para a Saúde Pública.

A severidade e a duração da doença no Homem depende da *Brucella* presente. A *Brucella suis* é considerada como sendo tão patogénica para o Homem quanto a *Brucella melitensis*, sendo altamente invasiva e originando uma doença severa, muitas vezes com graves complicações (Alton e Gulasekaram, 1974). Os biovares 1, 2 e 3 parecem assumir maior importância na epidemiologia da brucelose humana, se bem que o biovar 4 tenha alguma importância entre as populações das regiões polares (Meyer, 1966; Davis, 1989).

É uma doença ocupacional, ocorrendo sobretudo entre os profissionais ligados à produção animal e ao ramo alimentar. A incidência parece ser maior entre as populações rurais pela sua maior relação com os animais.

A ocorrência da infecção humana é dada pela prevalência da doença nos animais reservatórios, podendo o homem revelar infecções brucélicas não detectáveis pelos métodos sorológicos convencionais utilizados nos efectivos animais (Martinez *et al.*, 1989; Teyssou *et al.*, 1989; Fiocre, 1990)

A infecção estabelece-se normalmente através da pele intacta ou por soluções de continuidade que aí ocorrem, pela conjuntiva, por inalação de aerossóis contendo microrganismos, nomeadamente em matadouros, sobretudo na zona de matança, onde o sangue e os fluídos dos animais funcionam como fontes de infecção (Hendricks *et al.*, 1962: Currier, 1989). A via digestiva não é comum, sobretudo devido à pasteurização do leite. A infecção adquirida pelo contacto directo Homem-Homem, não foi até agora elucidada. SHARDA e HELIN (1988) relatam um caso no Koweit, de brucelose neonatal num bébé de termo e de parto normal, alimentado com leite materno que apresentava títulos aglutinantes na diluição de 1: 2560.

São frequentes as infecções entre Médicos Veterinários obtidas por inoculação, durante o manuseamento de vacinas, e entre o pessoal de laboratório que igualmente se infecta, normalmente por inalação.

O período de incubação varia bastante, de 7 a 30 dias, por vezes mais tempo. Não existem sintomas patognomónicos, podendo o paciente experimentar febre contínua, intermitente ou irregular, fraqueza, depressão, transpiração, dores de cabeça, arrepios, artralgia, dores musculares, anorexia e perda de peso. É frequente a evolução para a cronicidade em pacientes não tratados e a morte é ocasional, muitas vezes como resultado de infecções secundárias (Currier, 1989).

CAPÍTULO III

Materiais e Métodos

A fase de amostragem teve início no dia 16 de Março de 1992 e terminou no dia 21 de Julho de 1992. O término das colheitas nesta data deveu-se à necessidade de efectuar os testes sorológicos antes do mês de Agosto, altura em que têm início as férias do pessoal auxiliar do laboratório, enquanto as provas culturais só terminaram no início do mês de Outubro.

O matadouro onde decorreram as colheitas de sangue e orgãos dos suínos, localiza-se em Alcains, freguesia do concelho de Castelo Branco. Serve sobretudo os concelhos de Castelo Branco, Covilhã, Fundão, Idanha-a-Nova, Mação, Oleiros, Penamacor, Proença-a-Nova, V.V. do Rodão e por vezes abate suínos de outras regiões, nomeadamente do distrito da Guarda, do Alentejo, do Ribatejo e da península de Setúbal.

Na fase de planificação do nosso estudo foi estabelecida uma amostragem aleatória sistemática, face às condições de funcionamento da cadeia de abate do matadouro. No entanto, fomos confrontados com a inexistência de uma lista (ou de registos) dos suínos que são abatidos no matadouro, tornando impossível construir uma lista de amostragem, pelo que ficámos condicionados a seguir um método não probabilístico de amostragem.

A estratégia adoptada de forma a complementar e a melhorar a qualidade dos dados que se poderiam obter, foi a de recorrer a uma combinação de dois tipos de amostragem: uma amostragem **empírica** nos suínos para abate e uma amostragem **intencional** (Martin *et al.*, 1987), num "follow-up" a realizar sob as explorações onde o estudo viesse a detectar animais seropositivos.

As metodologias empregues são descritas nos parágrafos seguintes, e reflectem as dificuldades encontradas na colheita de amostras quando se torna necessário reduzir a um mínimo possível as interferências na rotina de operações dos magarefes na cadeia de abate.

3.1. Colheitas de sangue nos suínos abatidos no matadouro

Durante o tempo em que decorreu o trabalho, foram feitas colheitas de sangue aos suínos abatidos no matadouro, às segundas e terças-feiras entre as 14 horas e as 16 horas. Estes dias foram escolhidos por serem aqueles em que um maior número de animais são abatidos.

Os abates iniciavam-se às 13 horas, embora em muitos dias tivessem início mais tarde, sobretudo em dias de abate sanitário de pequenos ruminantes. Assim, optámos pelas 14 horas para iniciar as colheitas e uma vez que o laboratório fechava às 17 horas, as colheitas não podiam prolongar-se além das 16 horas. Em média eram abatidos 50 suínos por hora.

A colheita de sangue era feita para tubos esterilizados, no momento da sangria, através da veia jugular. A cada tubo foi atribuído um número e registado a data de abate, a marca auricular do suíno, o sexo e se era de engorda ou reprodutor. Por vezes, foi necessário recorrer à guia de trânsito para identificar a origem do animal, uma vez que a marca auricular não era bem visível ou porque simplesmente não existia.

No mês de Abril, durante duas semanas não nos foi possível proceder às colheitas de sangue, por incapacidade física resultante de um acidente, o que nos impedia de entrar no matadouro.

3.2. Colheitas de sangue nos efectivos de origem

Após a realização dos testes sorológicos, identificadas as explorações onde ocorriam resultados positivos, os produtores ou os Médicos Veterinários

assistentes foram contactados no intuito de procedermos a colheitas de sangue nos animais da exploração em causa, e simultâneamente obter toda a informação útil que permitisse uma melhor interpretação dos resultados obtidos na sorologia.

3.3. Colheita de orgãos nos suínos abatidos no matadouro

As colheitas de amostras de orgãos no matadouro foram realizadas em todos os suínos reprodutores abatidos, com excepção daqueles cuja evisceração ocorria após as 16 horas.

A partir de Junho, foram feitas colheitas de orgãos em suínos de engorda, com origem em explorações onde os testes sorológicos indicavam uma possível presença de infecção.

Uma vez que o Laboratório Nacional de Investigação Veterinária pôs as instalações e material à nossa disposição, dispensando o pagamento das análises bacteriológicas, houve a preocupação em não exagerar o número de colheitas, especialmente nos suínos de engorda. A necessidade de efectuar uma amostragem credível, no que respeita às colheitas de sangue e pelo facto de não dispormos de qualquer ajudante, não permitia permanecer na zona de evisceração durante muito tempo, pelo que por vezes não nos foi possível colher amostras de orgãos de todos os suínos de uma exploração, presumivelmente infectada. Assim, quando era abatido um grande número de suínos de engorda de uma dessas explorações, optámos pela colheita de sangue nos cinco primeiros animais, para que posteriormente fosse possível obter amostras de orgãos, sem permanecer muito tempo no local da evisceração, e ao mesmo tempo permitir a correcta identificação da amostra, em função do número de entrada atribuído no momento da colheita de sangue.

Os orgãos eleitos para o isolamento bacteriano, neste trabalho, foram os gânglios mandibulares, parotídeos, retrofaríngeos, inguinais superficiais nos machos e retromamários nas fêmeas, o baço, o fígado, os pulmões, o útero nas fêmeas e os testículos e epidídimo nos machos. Em duas fêmeas com sensivelmente dois meses de gestação, colhemos um feto de cada uma delas.

Outros orgãos não foram colhidos, uma vez que a sua extracção obrigaria a atrasos ou mesmo à paragem da linha de abate.

Os orgãos, após a colheita, eram colocados em frascos de vidro estanques e esterilizados,e rotulados com o número de entrada atribuído na colheita de sangue, assim como o sexo e se reprodutor ou de engorda.

3.4. Observação e registo de lesões

Foram registadas as lesões macroscópicas apresentadas pelos suínos abatidos no matadouro e submetidos ao exame sorológico. No momento da colheita de sangue foram observadas e registadas as anomalias apresentadas. Esta observação não era feita antes da colheita de sangue, para que não houvesse interferência na escolha dos animais a serem amostrados.

As lesões *pós-mortem* foram registadas apenas entre os animais onde foi feita a colheita de material para bacteriologia.

3.5. Processamento do material colhido no matadouro

3.5.1. Sorologia

Após as colheitas terminarem, o material era transportado imediatamente para o laboratório, que dista do matadouro cerca de 150 metros. Os sangues que normalmente já apresentavam retracção do coágulo, eram colocados no frigorífico a uma temperatura de 4°C.

No dia seguinte, era feito o teste do Rosa Bengala e preparado o teste da Aglutinação Lenta em Tubo, cuja leitura era realizada 24 horas depois. Por último procedia-se ao teste da Fixação do Complemento.

Todos estes três testes foram executados segundo o protocolo em vigor no L.N.I.V. que apresentamos no anexo II.

3.5.2. Bacteriologia

Após a chegada ao laboratório, o material colhido para bacteriologia era congelado. Posteriormente, este material era enviado para o L.N.I.V., onde se realizaram todos os exames bacteriológicos. Os orgãos colhidos em cada animal foram processados individualmente.

O diagnóstico bacteriológico baseia-se em três operações: a bacterioscopia, as provas culturais e as provas biológicas. As técnicas utilizadas, assim como toda a sua sequência, foi realizada conforme indicado por GOMES (1983).

Para a cultura primária de *Brucella*, foi utilizado um meio de *Brucella* (Agar Serum-Dextrose) adicionado com 5 % de soro de cavalo e com antibióticos (Meio de Farrel modificado). Foram semeadas quatro

placas para cada amostra, duas colocadas em atmosfera normal e duas em atmosfera com CO2 e humidade de 40%, incubadas a 37°C durante 5 a 10 dias.

As colónias suspeitas foram repicadas para um meio de agar tripticase soja com 1 % de extrato de levedura, mais 5% de soro de cavalo.

Paralelamente foram feitas sementeiras em agar sangue e agar MacConkey para pesquisa de bactérias Gram negativas.

Na bacterioscopia utilizámos os métodos de Gram e de Stamp.

3.6. Classificação dos resultados obtidos na sorologia

Os resultados do teste do Rosa Bengala foram classificados como positivos ou negativos. Qualquer grau de aglutinação foi classificado como positivo.

No teste da Aglutinação Lenta em Tubo, os resultados foram classificados consoante a aglutinação obtida na diluição mais alta. Assim, todos os soros que apresentassem um título maior ou igual a 100 U.I./ml foram classificados como positivos; os soros com título maior ou igual a 50 U.I./ml e inferior a 100 U.I./ml, foram classificados como fortemente suspeitos; os soros com título entre 25 U.I./ml e 50 U.I./ml, foram classificados de suspeitos e títulos inferiores a 25 U.I./ml foram classificados como negativos. Para a análise dos resultados, tendo em conta o comportamento destas provas nos suínos, foram considerados na apresentação dos resultados os animais negativos distribuídos em dois grupos: os que não apresentaram qualquer título e os que apresentaram títulos inferiores a 25 U.I./ml.

No teste da Fixação do Complemento, foram considerados como resultados negativos os animais com títulos inferiores a 1+ na diluição de 1:8 e como positivos, todos os soros com títulos iguais ou superiores a 1+ na diluição de 1:8. Foram ainda classificados como negativos, as reacções anticomplementares (AAC).

A classificação dos títulos obtidos nos testes de Aglutinação Lenta em Tubo e Fixação do Complemento, foi feita em função dos critérios usados por diversos autores lidos, assim como os regulamentos existentes em alguns países onde existem programas de controlo e erradicação da doença, como nos E.U.A. (U.S.D.A., 1986), uma vez que a brucelose nos suínos não está regulamentada em Portugal.

3.7. Inquérito às explorações de suínos do Distrito de Castelo Branco

Foi realizado um questionário (Anexo III) que foi enviado por via postal às explorações industriais, aos Médicos Veterinários assistentes das explorações, às zonas agrárias e às brigadas concelhias, com o objectivo de serem preenchidos em simultâneo com a declaração de existência dos efectivos, mas infelizmente não houve qualquer resposta.

Enviámos de novo o questionário, optando pelo mesmo sistema de distribuição, mas efectuámos entrevistas directas aos suinicultores nas suas próprias explorações.

3.8. Tratamento dos dados

Todos os dados obtidos na sorologia, na bacteriologia e no questionário, foram lançados numa base de dados criada para o efeito, e analisados no programa denominado EPI-INFO, versão 5.1..

CAPÍTULO IV

Apresentação dos Resultados

4.1. Resultados sorológicos dos sangues colhidos no matadouro

Foram colhidas um total de 1920 amostras de sangue de suínos abatidos no matadouro, numa média de 60 animais por dia de colheita. Estes suínos tiveram origem em 8 concelhos do distrito de Castelo Branco, embora 26 provenientes da Guarda e do Montijo. Estes animais não apresentavam marca auricular bem visível no abate, pelo que só posteriormente foi conseguida a identificação da sua origem. Pelo facto de representarem apenas 1,36% do total dos animais controlados e porque muitos dos animais adquiridos pelas explorações do distrito terem origem nesses concelhos, optámos por considerá-los na apresentação e análise dos resultados (Quadro nº 5)(Figura 3).

O concelho de Castelo Branco constituiu o maior fornecedor de animais, sendo igualmente importante o número de animais dos concelhos do Fundão e de Mação.

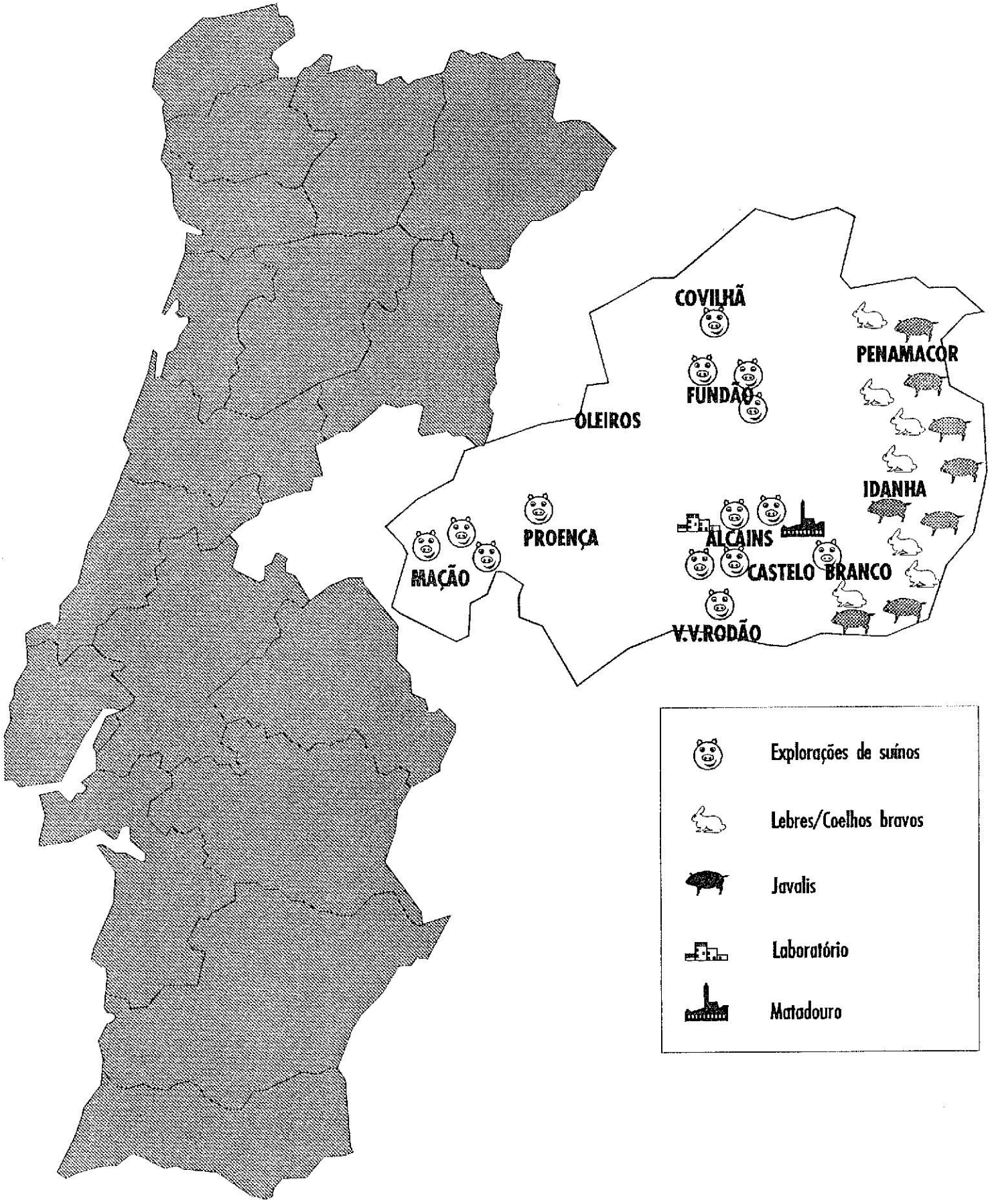
O número de explorações envolvidas nesta amostragem foi de 106, sendo 68,87 % familiares e 31,31% industriais. Das explorações industriais existentes no distrito de Castelo Branco, apenas as explorações do concelho

Quadro 5 - Distribuição dos animais amostrados no matadouro e resultados sorológicos por concelho

concelho	Nº de freguesia	Nº de explorações	Tipo / exploração Familiares	Industriais	nº de animais	Nº anim./Tipo exp. Familiares	Industriais	Resultados sorológicos Nº	%
Guarda	1	1 (0,94%)	0	1	9 (0,47%)	0	9	FC - 0 RB - 1 ALT - 1 Susp.	11,11 11,11
Monlijo	1	1 (0,94%)	0	1	17 (0,89%)	0	17	Todos os soros foram negativos	
Covilhã	4	4 (3,77%)	1	3	175 (9,11%)	8	167	FC - 4 RB - 7 ALT - 9 susp. 2 Fort. susp.	2,29 4,00 5,14 1,14
Fundão	7	11 (10,38%)	6	5	326 (16,98%)	44	282	FC - 0 RB - 15 ALT-17 Susp.	4,60 5,21
Penamacor	4	5 (4,72%)	5	0	14 (0,73%)	14	0	FC - 0 RB - 2 ALT - 0	14,29
V.V. Rodão	3	13 (12,26%)	9	4	291 (15,15%)	54	237	FC - 9 RB - 13 ALT 15 susp. 1 Fort. susp.	3,10 4,47 5,15 0,34
C. Branco	18	56 (52,83%)	42	14	792 (41,25%)	261	531	FC - 0 RB - 34 ALT - 18 Susp. 1 Fort. susp.	4,29 2,27 0,13
Proença-a-Nova	2	2 (1,89%)	1	1	70 (3,65%)	6	64	FC - 0 RB - 4 ALT - 4 Susp. 1 Fort. susp.	5,71 5,71 1,43
Mação	2	5 (4,72%)	1	4	199 (10,36%)	1	198	FC - 0 RB - 6 ALT - 3 Susp.	3,01 1,5
Idanha-a-Nova	7	8 (7,55%)	8	0	27 (1,41%)	27	0	FC - 0 RB - 1 ALT - 0	3,7
Totais	49	106	73 (68,87%)	33 (31,13%)	1920	415	1767	FC - 13 RB-82 ALT - 67 Susp. 6 Fort. susp.	0,67 4,30 3,49 0,31

As percentagens foram obtidas em função dos totais correspondentes a cada coluna
As percentagens dos resultados sorológicos foram obtidas em função do número de animais por concelho

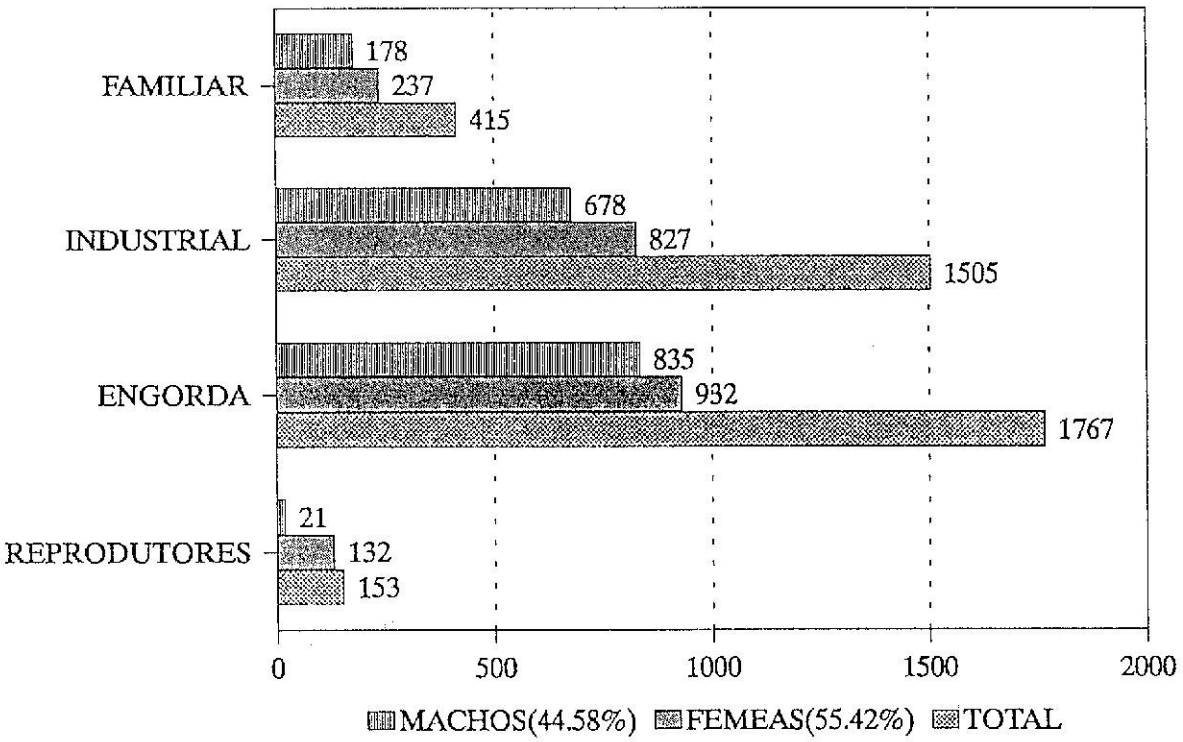
Figura 3 - Principais Àreas de Concentração de Explorações Suínas e Espécies Animais Silváticas



da Sertã e duas do concelho de Mação, não foram submetidas a este rastreio, uma vez que esses animais são abatidos nos matadouros de Tomar e de Pedrogão. Do mesmo modo, um número considerável de explorações familiares da região foram controladas com excepções, constituídas sobretudo por explorações que não possuem reprodutores e cujos abates são caseiros. No entanto, sublinhe-se que algumas das explorações estão representadas na amostragem feita neste trabalho por um número muito limitado de animais, sobretudo explorações familiares.

A distribuição dos animais por tipo de exploração, engorda e reprodutores e por sexo pode ser observado no Gráfico nº 2.

Gráfico 2 - Distribuição dos animais por tipo de exploração, por engorda e reprodutores e por sexo



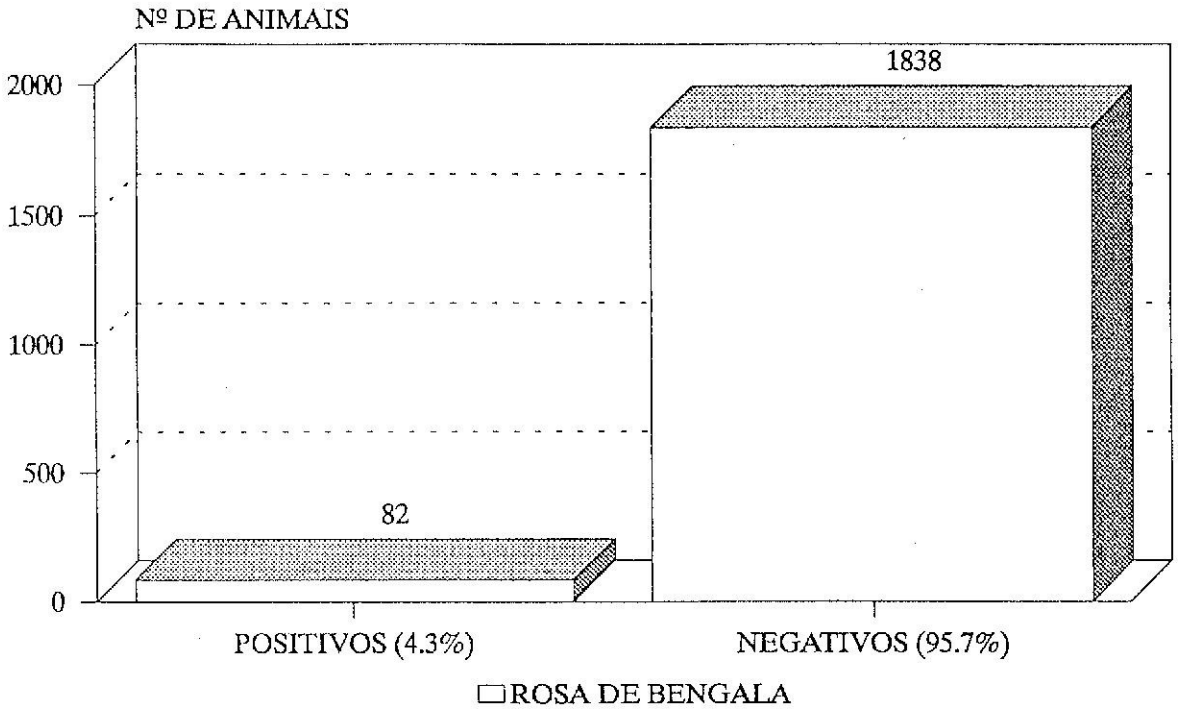
Há um maior número de animais com origem nas explorações industriais, e uma percentagem de machos e fêmeas similar. No entanto, entre os reprodutores abatidos, o número de fêmeas constituiu 86 % do seu total.

Nos Gráficos nºs 3, 4 e 5 estão registados os resultados sorológicos globais nos três testes utilizados neste trabalho, respectivamente o Rosa Bengala, a Aglutinação Lenta em Tubo e a Fixação do Complemento.

No teste do Rosa Bengala (R.B.), 82 soros foram positivos, correspondendo a 4,3 % do total dos soros analisados (Gráfico nº 3). Estes resultados

foram detectados em 42 explorações ou seja, em cerca de 40 % do total de explorações.

Gráfico 2 - Resultados totais no Teste do Rosa Bengala

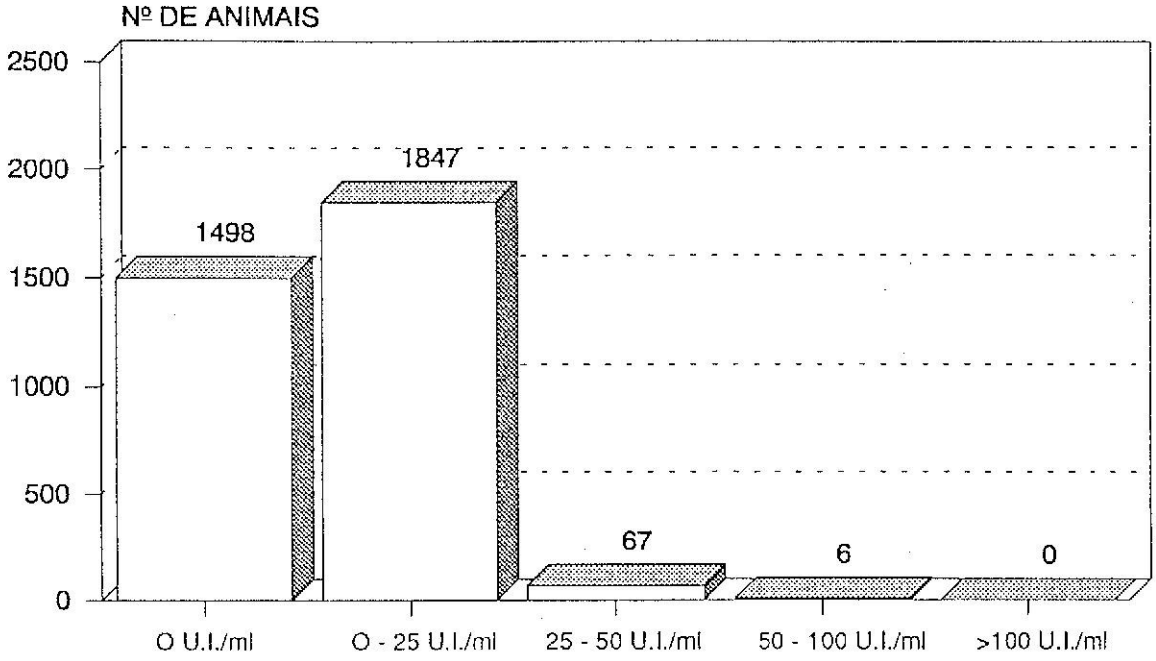


O maior número de resultados positivos neste teste foi detectado em explorações do concelho de Castelo Branco, embora as percentagens globais por concelho tivessem sido similares, cerca de 4%, sendo apenas ligeiramente superior em Proença-a-Nova, com 5,71 % (Quadro nº 5). Neste concelho, mais de 90 % dos animais abatidos pertenciam a uma única exploração, na qual os animais são comprados nas várias zonas do país para abate, quer sejam de engorda quer sejam reprodutores, permanecendo pouco mais de uma semana na exploração.

Na Aglutinação Lenta em Tubo (A.L.T.), nenhum soro apresentou um título positivo, ou seja, igual ou superior a 100 U.I./ml (Gráfico nº 4). No entanto, 422 animais apresentaram títulos distribuídos por 74 explorações.

Apenas 6 (0,31 %) animais foram classificados como fortemente suspeitos, sendo de 72 U.I./ml o maior título registado, enquanto 67 (3,5 %) foram classificados como suspeitos. Todos os outros animais apresentaram títulos inferiores a 25 U.I./ml, tendo sido por isso classificados como negativos. O número de soros que não apresentaram qualquer título foram 1498, correspondente a 78% do total dos animais.

Gráfico 4 - Resultados totais no Teste de Aglutinação Lenta em Tubo

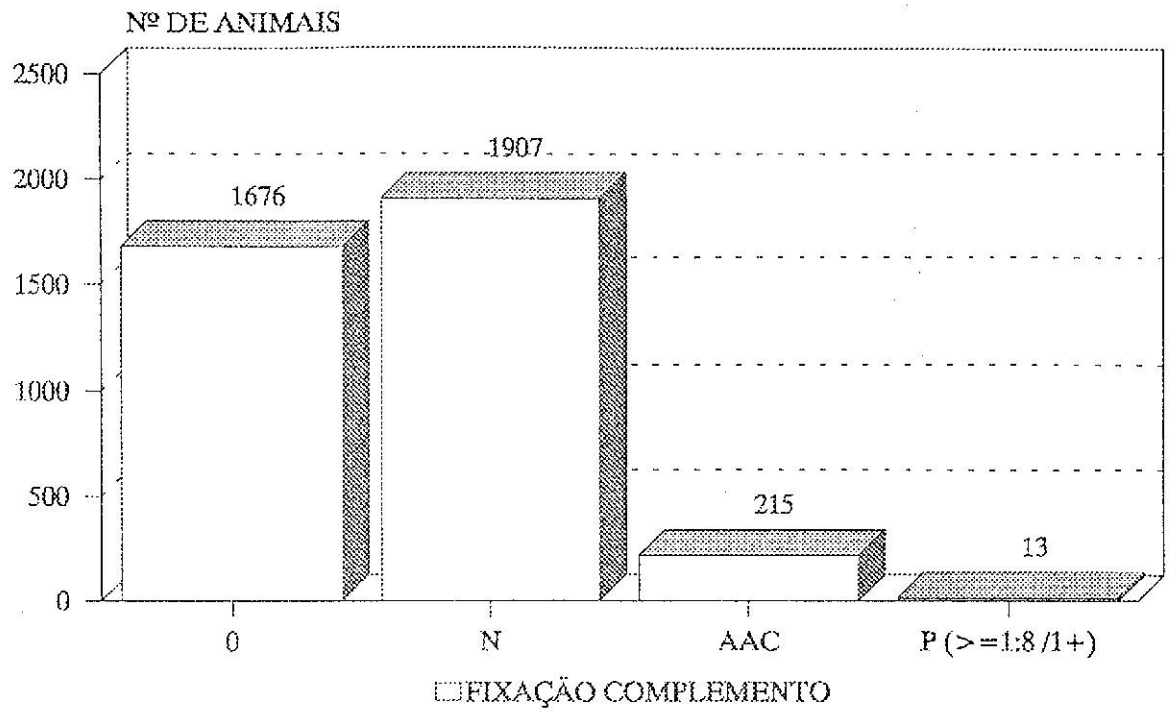


Na Fixação do Complemento (F.C.), 13 (0,68 %) animais apresentaram títulos positivos, sendo o maior título registado de 4+ na diluição de 1:16 (Gráfico nº 5).

Estes resultados positivos foram registados em apenas duas explorações situadas, uma em V.V. de Rodão e outra na Covilhã (Quadro nº 5). Numa das explorações, 9 soros apresentaram títulos positivos num total de 201 animais dessa exploração controlados no matadouro, o que corresponde a 4,48 %. Outros 7 soros apresentaram títulos na diluição de 1:4. Nesta exploração, 12 soros apresentaram títulos superiores a 25 U.I./ml no teste A.L.T.; o soro de uma fêmea reprodutora registou um título de 72 U.I./ml, foi positivo no R.B. e com uma reacção anticomplementar na F.C.. No teste do Rosa Bengala 7 soros foram positivos, 3 dos quais, igualmente positivos na F.C..

Na outra exploração foram testados 126 animais, dos quais 7 (5,6%) foram positivos no R.B., 10 apresentaram na A.L.T. títulos superiores a 25 U.I./ml; duas fêmeas de engorda, com títulos de 52 U.I./ml e de 62 U.I./ml, respectivamente. Na F.C., dos 4 soros com títulos positivos, 2 foram igualmente positivos no R.B.. Outros 4 soros apresentaram títulos na diluição de 1:4, dos quais dois foram positivos no R.B..

Gráfico 5 - Resultados Totais no Teste da Fixação do Complemento



Foram ainda registados títulos na diluição de 1:4 no teste da F.C. em soros de suínos provenientes de outras 4 explorações. Numa destas, foi possível observar dois varrascos com orquite, negativos aos três testes sorológicos utilizados.

Foram classificados 99,2 % dos soros como negativos na F.C., dos quais, 1676 (87,29 %) não apresentaram qualquer reacção neste teste, 16 soros com títulos na diluição de 1:4 e 215 (11 %) soros com reacção anticomplementar.

Nos quadros nºs 6,7 e 8, podemos avaliar os resultados sorológicos obtidos nos três testes por tipo de exploração, nos suínos de engorda e nos reprodutores e ainda por sexo.

O número de soros positivos no teste do Rosa Bengala foi maior entre os reprodutores. O número de positivos neste teste é igualmente maior nos animais com origem nas explorações familiares e nas fêmeas em geral. O número de machos com resultados positivos é relativamente elevado, com uma percentagem não muito inferior à percentagem de fêmeas positivas a este teste.

No teste de Aglutinação Lenta em Tubo, um número relativamente elevado de soros apresentaram títulos em todas as categorias consideradas. Esse número assume maior expressão nos reprodutores, tal como no teste do R.B.. De notar que entre os reprodutores, mais de metade dos machos apresentaram títulos, embora nenhum desses soros tenha registado um título superior a 50 U.I./ml.

Quadro 6 - Resultados da Sorologia em suínos abatidos no Matadouro (totais)

TESTES SOROLOGICOS	RESULTADOS	FAMILIAR		INDUSTRIAL		ENGORDA		REPRODUTORES		MACHOS		FEMEAS	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
ROSA DE BENGALA	POSITIVOS	28	6,75	54	3,59	58	3,25	24	15,69	27	3,15	55	5,17
AGLUTINAÇÃO LENTA	0 U.I.	307	73,98	1179	78,34	1413	79,97	85	55,55	679	79,32	819	76,97
	0 - 25 U.I.	93	22,41	268	17,81	302	17,09	47	30,72	148	17,29	101	10,48
	25 - 50 U.I.	13	3,13	54	3,58	47	2,66	20	13,07	27	3,15	40	3,76
	>50 U.I.	2	0,48	4	0,27	5	0,28	1	0,65	2	0,25	4	0,38
FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO	P	0	0	13	0,86	13	0,74	0	0	7	0,82	6	0,56
	AAC	38	9,16	177	82,32	196	11,06	19	12,42	111	12,97	104	9,77

As porcentagens foram obtidas em função dos totais de cada coluna

Quadro 7 - Resultados da Sorologia em suínos abatidos no Matadouro

TESTES SOROLOGICOS	RESULTADOS	ENGORDA				REPRODUTORES				MACHOS				FEMEAS			
		FAMILIAR		INDUSTRIAL		FAMILIAR		INDUSTRIAL		FAMILIAR		INDUSTRIAL		FAMILIAR		INDUSTRIAL	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
ROSA DE BENGALA	POSITIVOS	16	4,51	42	2,97	12	20,0	12	12,9	7	3,93	20	2,95	21	8,86	34	4,1
AGLUTINAÇÃO LENTA	0 U.I.	271	76,34	1142	80,88	36	60,0	49	52,68	132	74,16	547	80,68	175	73,84	644	77,87
	0 - 25 U.I.	75	21,13	227	16,08	18	30,0	29	31,18	40	22,47	108	15,98	53	22,36	148	17,90
	25 - 50 U.I.	7	1,97	40	2,83	6	10,0	14	15,05	5	2,81	20	2,95	8	3,38	32	3,87
	>50 U.I.	2	0,56	3	0,21	0	0	1	1,07	1	0,56	1	0,15	1	0,42	3	0,36
FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO	P	0	0	13	3,56	0	0	0	0	0	0	7	1,03	0	0	6	0,73
	AAC	30	2,12	166	11,7	8	8,6	11	18,33	19	10,67	92	13,56	19	8,02	85	10,28

As percentagens foram obtidas em função do numero de animais de engorda , reprodutores machos e femeas por tipo de exploração

Quadro 8 - Resultados da Sorologia sexo/função

TESTES SOROLOGICOS	RESULTADOS	ENGORDA				REPRODUTORES			
		MACHOS		FEMEAS		MACHOS		FEMEAS	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
ROSA DE BENGALA	POSITIVOS	24	2,87	34	3,65	3	14,29	21	15,90
AGLUTINAÇÃO LENTA	0 U.I.	669	80,12	744	79,83	10	47,62	75	56,82
	0 - 25 U.I.	143	17,13	159	17,06	5	23,81	42	31,82
	25 - 50 U.I.	21	2,51	26	2,79	6	28,57	14	10,61
	>50 U.I.	2	0,24	3	0,32	0	0	1	0,75
FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO	P	7	0,82	6	0,64	0	0	0	0
	AAC	106	12,69	90	9,66	5	23,51	14	10,6

As percentagens foram obtidas em função dos totais de engorda e reprodutores

Na Fixação do Complemento, nenhum reprodutor apresentou título positivo. Os títulos positivos foram registados em soros de suínos de engorda, todos eles com origem em explorações industriais.

Comparando os resultados sorológicos nos testes, dois a dois, o Rosa Bengala e a Aglutinação Lenta em Tubo foram ambos negativos em 1794 soros (93,43%) (Quadro nº 9). Dos resultados positivos ao R.B., cerca de 65 % foram classificados como negativos ao teste da A.L.T.. Apenas 25 foram classificados de suspeitos e 4 fortemente suspeitos na A.L.T., respectivamente cerca de 30 % e 5 % dos positivos no teste do Rosa Bengala.

Quadro 9 - Resultados da Sorologia R.B. / A.L.T.

RESULTADOS SOROLOGIA (Nº DE ANIMAIS 1920)	AGLUTINAÇÃO LENTA EM TUBO (U.I.)			
	0 U.I./ml	0 - 25 U.I./ml	25 - 50 U.I./ml	>50 U.I./ml
ROSA DE BENGALA +	21 1,09%	32 1,67%	25 1,30%	4 0,21%
ROSA DE BENGALA -	1477 76,93%	317 16,51%	42 2,19%	2 0,10%

As percentagens foram obtidas em função do número total de animais

Entre os resultados negativos ao teste do R.B., 97,60 % foram negativos, 2,29% suspeitos e 0,11% como fortemente suspeitos na A.L.T. (Quadro nº 9).

Dos resultados negativos na Aglutinação Lenta em Tubo, 2,87 % foram positivos no R.B.. Cerca de 37 % dos suspeitos na A.L.T. foram positivos no R.B., enquanto 66,66 % dos soros classificados de fortemente suspeitos foram positivos ao R.B. (Quadro nº 9).

Comparando os soros positivos no Rosa Bengala com os resultados na Fixação do Complemento, 93,90 % foram negativos à F.C., com cerca de 12 % de reacções AAC e 6,10 % foram positivos. Dos 1838 soros negativos ao R.B., 8 (0,43%) foram positivos à F.C. (Quadro nº 10). Na Fixação do Complemento, 4,04 % dos negativos foram positivos no R.B., enquanto 61,53 % dos positivos na F.C. foram negativos no Rosa Bengala. Ambos os testes classificaram 95,31 % dos resultados como negativos e apenas 0,26 % como positivos (Quadro nº 10).

Quadro 10 - Resultados da Sorologia R.B. / F.C.

Resultados Sorologia (Nº de Animais 1920)	Fixação do Complemento		
	AAC	N	POS (>=1:8/1+)
Rosa de Bengala +	10 (0,52 %)	67 (3,49 %)	5 (0,26 %)
Rosa de Bengala -	205 (10,67 %)	1625 (84,64 %)	8 (0,42 %)

As percentagens foram obtidas em função do número total de animais.

Na Fixação do Complemento e no teste de Aglutinação Lenta em Tubo, 85,36 % dos soros foram negativos em ambas as provas (Quadro nº 11). Dos resultados negativos à F.C., 2,10 % e 0,16 % foram respectivamente classificados de suspeitos e fortemente suspeitos à A.L.T.. Dos resultados positivos à F.C., 0,21 % foram classificados de suspeitos e 0,10 % foram classificados de fortemente suspeitos, pela A.L.T. (Quadro nº 11).

Quadro 11 - Resultados da Sorologia F.C. / A.L.T.

RESULTADOS SOROLOGIA (Nº DE ANIMAIS 1920)	AGLUTINAÇÃO LENTA EM TUBO (U.I.)			
	0 U.I./ml	0 - 25 U.I./ml	25 - 50 U.I./ml	>50 U.I./ml
FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO AAC	157 8,18%	201 10,47%	13 0,68%	1 0,05%
FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO N	1182 61,56	300 15,63%	27 1,41%	2 0,10%
FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO P(>=1 : 8/1+)	2 0,10%	7 0,36%	4 0,21%	2 0,1 %

As percentagens foram obtidas em função do número total de animais

Dos soros negativos à A.L.T. apenas 7 foram positivos à F.C., o que corresponde a 0,37% do total de negativos à A.L.T.. Entre os classificados como suspeitos, 5,97 % foram positivos na F.C., enquanto 33,33 % dos fortemente suspeitos apresentaram igualmente títulos positivos na F.C. (Quadro nº 11).

Em relação aos soros com reacção anticomplementar, 95,34 % e 93,48 % foram negativos respectivamente no R.B. e na A.L.T. (Quadros nº 9 e 11).

Associando os resultados obtidos nos três testes, realça-se o facto de nenhum soro ter sido classificado como positivo às três provas (Quadro nº 12).

Quadro 12 - Resultados sorológicos R.B./F.C./A.L.T.

Resultados sorológicos			Nº de animais	%	Machos	Fêmeas	Engorda	Repro-dutores
R.B.	A.L.T.	F.C.						
+	>100 U.I./ml	+	0	0	-	-	-	-
+	>50 U.I./ml	+	1	0,05	-	1	1	-
+	>50 U.I./ml	-	4	0,21	1	3	2	2
+	<25 U.I./ml	+	2	0,10	1	1	2	-
+	<25 U.I./ml	-	51	2,66	15	36	42	9
+	>25 U.I./ml	+	3	0,16	1	2	3	-
+	>25 U.I./ml	-	26	1,35	10	16	16	10
+	<50 U.I./ml	+	4	0,21	2	2	4	-
+	<50 U.I./ml	-	74	3,85	24	50	51	23
-	>50 U.I./ml	+	1	0,05	1	-	1	-
-	>50 U.I./ml	-	1	0,05	-	1	1	-
-	>25 U.I./ml	+	3	0,16	2	1	3	-
-	>25 U.I./ml	-	41	2,14	16	25	30	11
-	<50 U.I./ml	+	6	0.31	4	2	6	-
-	<50 U.I./ml	-	1828	95,25	825	1003	1699	129
-	<25 U.I./ml	+	5	0,26	3	2	4	-
-	<25 U.I./ml	-	1789	93,18	808	981	1671	118

As percentagens foram obtidas em função do número total de animais

Dos resultados negativos, 93,18 % foram negativos às três provas e 95,25 % se se considerar como negativos os resultados inferiores a 50 U.I./ml à A.L.T..

Considerando uma prova positiva e duas negativas, registe-se que 62,20% dos positivos no R.B., 38,46 % dos positivos na F.C., 61,19 % dos suspeitos e 16,66 % dos fortemente suspeitos na A.L.T., foram negativos nas outras duas provas (Quadro nº 12).

Apenas 0,21% dos negativos ao R.B. foram positivos na F.C. e suspeitos ou fortemente suspeitos na A.L.T.. Dos 1907 soros negativos na F.C., 1,57% foram positivos ao R.B. e suspeitos ou fortemente suspeitos na A.L.T. (Quadro nº 12).

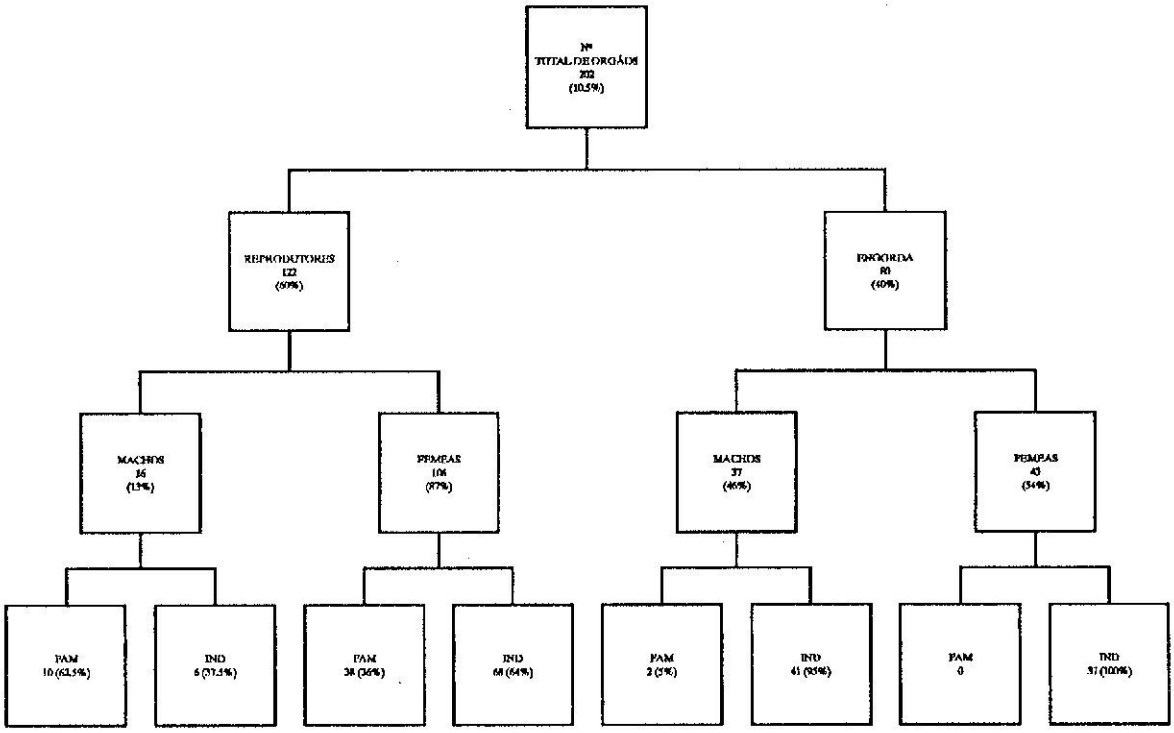
Entre os negativos à A.L.T., 0,11% foram positivos ao R:B. e à F.C.. Dos suspeitos à A.L.T., 4,48 % foram positivos nos outros dois testes, enquanto entre os fortemente suspeitos, apenas se registou um soro positivo.

4.2. Resultados da sorologia e bacteriologia

Para a bacteriologia foram colhidas amostras de 202 animais, o que corresponde a 10,5 % do total dos animais amostrados sorologicamente

no matadouro. Desses 202 animais, 122 eram reprodutores e os outros 80 eram de engorda, correspondendo respectivamente a 79,74 % do total de reprodutores e a 4,53 % do total de suínos de engorda (Quadro nº 13).

Quadro 13 - Material colhido para bacteriologia



Em nenhum dos orgãos colhidos no matadouro se conseguiu isolar *Brucella*. Em algumas placas observou-se o crescimento de colónias de bactérias contaminantes de superfície *(Pseudomonas fluorescens)*, no entanto a maioria permaneceu estéril.

De notar que nos resultados sorológicos obtidos nestes 202 animais, 18 foram positivos no R.B., 12,5 % nos reprodutores e 3,8 % entre os suínos de engorda. Na A.L.T., 89,0 % foram negativos, com maior número entre os reprodutores. De todos, apenas um foi classificado de fortemente suspeito (Quadro nº 14).

Na F.C., todos os resultados foram negativos, dos quais, 14 % deram reacção AAC.

A sensibilidade e especificidade dos testes não poderam ser determinadas neste trabalho, uma vez que não houve isolamento da bactéria.

Quadro 14 - Suínos com material colhido para bacteriologia (resultados da sorologia)

Testes sorológicos	Resultados ml	Total Nº	Total %	Engorda Nº	Engorda %	Reprodutor Nº	Reprodutor %
Rosa de Bengala	Positivos	18	9,0	3	3,8	15	12,5
	Negativos	184	91,0	77	96,3	107	87,5
Aglutinação Lenta em tubo	0 U.I.	122	60,40	57	71,25	65	53,27
	0 - 25 U.I.	62	30,69	20	25,00	42	34,43
	25 - 50 U.I.	17	8,42	3	3,75	14	11,48
	>50 U.I.	1	0,50	0	0	1	0,82
Fixação do Complemento	N	174	86,14	69	86,25	105	86,07
	P	0	0	0	0	0	0
	AAC	28	13,86	11	13,75	17	13,93

As percentagens foram obtidas em função dos totais de cada coluna

4.3. Resultados sorológicos dos sangues colhidos nas explorações

Apenas foi possível colher 12 sangues em duas explorações. Os proprietários alegaram o stress a que os animais iam ser submetidos e o facto de ter terminado em Março uma campanha de colheitas de sangue para rastreio da P.S.A., assim como a entrada de estranhos na exploração, a falta de tempo, o facto de entrarmos em muitas explorações em muito pouco tempo e a não obrigatoriedade da colheita, como motivos para não autorizarem as colheitas de sangue.

No entanto, numa exploração com títulos positivos à F.C. e com problemas de aborto, foi possível colher sangue em 10 porcas, das 86 do efectivo total de porcas reprodutoras, tendo apenas sido obtido um resultado positivo ao R.B. e outros três soros apresentaram títulos inferiores a 25 U.I./ml na A.L.T.. Todos os 10 soros foram negativos no teste da F.C.. Numa outra exploração, onde ocorreram igualmente títulos na F.C. na diluição de 1:4, foi possível colher sangue a dois varrascos que apresentavam orquite, tendo os resultados sido negativos na sorologia.

4.4. Lesões observadas no matadouro

A grande maioria dos suínos abatidos apresentavam diversas lesões pulmonares. Duas porcas apresentavam mamite, mas nenhum resultado positivo foi registado na sorologia. Um baço bastante atrofiado, foi observado numa porca reprodutora, envolvido por uma cápsula fibrosa, tendo sido positiva no R.B. e não apresentando qualquer título nos outros testes.

Alguns animais apresentavam abcessos, sobretudo subcutâneos, dois na região do pescoço. Outros dois suínos tinham abcessos no fígado. Nenhum dos animais apresentou sorologia positiva, a qualquer dos testes. Segundo os inspectores, em média, dois animais por mês apresentavam abcessos generalizados, sobretudo no fígado e no baço. Nunca nenhum desses orgãos foi enviado para análise laboratorial pelos inspectores sanitários, limitando-se a rejeitar os orgãos afectados e eventualmente a carcaça. Durante o nosso trabalho, nenhum abcesso foi detectado no baço.

Muitos dos reprodutores, apresentavam os gânglios hipertrofiados e hemorrágicos. Como já foi referido, nenhum foi positivo na bacteriologia.

Nos machos, um varrasco e um suíno de engorda apresentavam uma orquite unilateral. Apenas o varrasco apresentou 26 U.I./ml na A.L.T., sendo negativo nos restantes testes.

Duas reprodutoras sofriam de paralisia dos membros posteriores, não tendo sido possível apurar a causa junto do proprietário, parecendo ser resultado de um traumatismo. Nenhuma destas porcas entrou no matadouro com pedido de abate de urgência. Ambas foram negativas na sorologia e na bacteriologia.

4.5. Resultados do inquérito às explorações

Os resultados do inquérito foram obtidos em 41 explorações, 18 das quais industriais, 11 familiares, 1 familiar de carácter extensivo e 11 familiares sem reprodutores, com carácter caseiro. A adesão dos suinicultores ao preenchimento do questionário não foi grande, sobretudo devido à desconfiança em relação à finalidade do inquérito.

As explorações com carácter caseiro, situam-se todas no concelho de Penamacor, onde apenas existe uma exploração industrial de carácter extensivo que se dedica quase exclusivamente à venda de leitões de várias idades, para explorações do tipo caseiro e outras explorações

concelho que se dedicam à engorda dos suínos.

Todas as outras explorações, têm um efectivo de substituição próprio, adquirindo alguns reprodutores no mercado nacional. Segundo os proprietários, a importação é um processo complicado, mas 10 dos inquiridos importaram animais nos últimos três anos de França, Espanha, Inglaterra, Alemanha e Bélgica. Em informação obtida na D.R.A.B.I., durante o ano de 1991, foram importados para a Beira Interior, 72 suínos reprodutores, 12 machos e 60 fêmeas da França e da Espanha.

Na exploração já referida, onde ocorreram os dois casos de orquite em varrascos, o proprietário comprou algumas fêmeas alentejanas de montado para reprodução. Esta exploração possui igualmente 4 reprodutores, um macho e três fêmeas, no exterior dos pavilhões, funcionando como uma exploração tipo caseiro com contacto directo para o exterior.

Uma das explorações onde ocorreram casos positivos no teste da F.C., iniciou a actividade em 1981, a partir de um núcleo de porcas compradas a um suinicultor de Arganil (distrito de Coimbra). Por sua vez, este suinicultor, poucos meses antes da venda, tinha registado um surto de abortos. Alertado por alguém que lhe havia afirmado existir brucelose nos suínos, conseguiu obter vacina B 19 utilizada em bovinos, e vacinou todo o efectivo reprodutor. O novo proprietário confrontou-se desde o início com alguns abortos esporádicos; há dois anos ocorreu um surto de abortos por parvovirose, diagnóstico obtido por sorologia.

Em relação ao sistema de alimentação, 38 responderam que alimentavam os animais com ração, enquanto entre as explorações caseiras e algumas familiares, são utilizadas lavagens e o soro do leite utilizado no fabrico de queijo. Uma exploração industrial utiliza restos de refeições que obtêm nos restaurantes, enquanto o proprietário da exploração familiar extensiva, utiliza apenas a pastagem (Quadro nº 15).

Quadro 15 - Tipo de alimentação

Tipo de alimentação	Nº de explorações	%
Ração	38	92,68
Restos de cozinha	1	2,44
Lavagens/Hortaliça	16	39,02
Pastagens	1	2,44
Soro de leite	10	24,39

No Quadro nº 16, registam-se os valores médios do número de leitões ao desmame por porca, em média de 9,05, nas explorações inquiridas. No entanto, muitos suinicultores não têm registos que lhes permitam determinar com alguma precisão essas médias.

Quadro 16 - Média de leitões por porca ao desmame (resposta ao inquérito)

Média de leitões/ /porca ao desmame	Nº de explorações	%
7,0	2	6,7
8,0	9	30,0
8,4	1	3,3
8,5	4	13,3
8,8	1	3,3
9,0	6	20,0
9,2	1	3,3
9,6	1	3,3
10,0	3	10,0
12,0	1	3,3
Desconhece	1	3,3

As principais patologias que afectam as explorações, estão registados no Quadro nº 17.

Quadro 17 - Patologia (resposta ao inquérito)

Patologia	Nº de expl.	%
Abortos	14	46,66
Fetos mumificados	3	10,00
Nado-mortos	18	60,00
Recém nascidos(morte 1os dias)	9	30,00
Retorno de cios	15	50,00
Orquite	3	10,00
Paralisia dos membros post.	4	13,33
Artrites	8	26,66
Retenções placentárias	4	13,33
Metrites	3	10,00
Sem patologias	1	3,33

O aborto ocorreu de forma esporádica em cerca de metade das explorações inquiridas com reprodutores, durante os últimos 3 anos. Em 4 explorações ocorreram surtos de aborto durante esse mesmo período de tempo. O diagnóstico foi feito sorologicamente, tendo em dois casos sido atribuídos à Doença de Aujezsky e um à Parvovirose. O outro caso foi resolvido com o abate das fêmeas sem que se tenha procurado obter um diagnóstico.

O retorno de cios e o aparecimento de nado-mortos ocorrem com alguma frequência na maioria das explorações.

Por análise dos registos no laboratório de Alcains, os problemas de patologia nos suínos necropsiados relacionam-se sobretudo com o foro digestivo e respiratório.

A vacinação não é prática muito comum, tendo 53,33 % dos produtores manifestado que não vacinavam. Entre aqueles que vacinam, esta é feita a nível dos reprodutores, sendo apenas 4 as explorações que declararam vacinar os leitões. Nos reprodutores, as vacinações são efectuadas contra os coliformes, Pasteurelose, Doença de Aujezsky, Parvovirose e Rinite Atrófica (Quadro nº 18).

Quadro 18 - Vacinação dos reprodutores (resposta ao inquérito)

Vacinação das Porcas Reprodutoras	Nº de explorações	%
Doença de Aujezsky	7	23,33
Pasteurelose	1	3,33
Coliformes	10	33,33
Parvovirose	5	16,66
Rinite Atrófica	4	13,33
Não vacinam	16	53,33

Nos leitões a vacinação é feita de um modo geral ao desmame. Duas explorações vacinam contra coliformes, uma contra a Doença de Aujezsky, uma contra a Pasteurelose e uma outra tem uma vacina de rebanho contra o *Haemophilus*.

Na grande maioria das explorações existem outras espécies animais, com relevância para a presença dos cães (Quadro nº 19).

Nas explorações ditas caseiras, há um contacto maior ou menor entre os suínos e as diferentes espécies animais, especialmente os cães,

assim como em algumas das explorações familiares. Nas outras não se observa esse contacto e os cães servem de guarda à exploração, normalmente presos. Em duas explorações industriais, os proprietários revelaram a existência de javalis no interior das explorações.

Quadro 19 - Presença de animais na exploração (resposta ao inquérito)

Espécie	Nº de explorações	%
Bovinos	10	24,39
Ovinos	14	34,15
Caprinos	17	41,46
Cães	27	65,85
Javalis	2	4,88
Equinos	1	2,44
Aves	2	4,88
Não possuem outros animais	12	29,27

Apenas dois produtores com ruminantes na exploração, afirmaram ter brucelose nos ovinos e caprinos, e nenhum afirmou ter conhecimento da existência de brucelose humana entre as pessoas ligadas à exploração. Nas explorações com outros espécies animais, os tratadores são geralmente os mesmos para ambas as espécies.

CAPÍTULO V

Discussão dos Resultados

Nos 202 animais abatidos no matadouro, dos quais colhemos sangue e orgãos, não foi isolada a *Brucella* apesar dos resultados positivos obtidos nos testes do Rosa Bengala e da Fixação do Complemento, e dos resultados classificados como suspeitos e fortemente suspeitos no teste da Aglutinação Lenta em Tubo, no total dos 1920 suínos submetidos ao controlo sorológico.

O não isolamento da *Brucella* associado ao desconhecimento total sobre a existência de brucelose suína na região, e à impossibilidade em obter informação sobre o comportamento sorológico dos efectivos de origem dos animais controlados no matadouro, colocam sérias dificuldades à análise e interpretação correcta dos resultados sorológicos obtidos neste trabalho.

STUART *et al.* (1987) e ROGERS *et al.* (1989) referem que os testes sorológicos utilizados no nosso trabalho não apresentam a mesma eficiência nos suínos, que quando aplicados aos bovinos. Há uma variação individual nos títulos e nas respostas aos testes utilizados nos suínos, pelo que a sua interpretação deve ser feita com a maior precaução.

Pela análise dos resultados obtidos na bacteriologia e no teste da Fixação do Complemento, este pela sua especificidade, podemos ser induzidos a considerar os resultados positivos no Rosa Bengala como resultados falso-positivos, assim como os resultados na A.L.T. como resultados negativos e consequentemente, a admitir a não existência de brucelose suína na região.

É comum observar-se numa exploração de suínos não infectada, alguns animais que reagem positivamente aos testes sorológicos clássicos, sobretudo entre os reprodutores (Argote, 1970; Thoen *et al.*, 1980; Moreira *et al.*, 1988). DEYOE (1972) refere que 20 % das porcas podem apresentar títulos da ordem das 30 U.I./ml na época de reprodução, sem qualquer evidência clínica ou epidemiológica da doença. Do mesmo modo, os suínos não infectados, com idade avançada apresentam resultados positivos no Rosa Bengala com maior frequência (Thoen *et al.*, 1980).

Note-se que, entre os produtores que declararam vacinar os seus efectivos, 36,66 % declarou vacinar contra a pasteurelose e contra a colibacilose. É provável que estas vacinações possam estar na origem de alguns dos resultados positivos no teste do R.B. e nos títulos registados na A.L.T., sobretudo nos reprodutores, uma vez que as vacinações são aplicadas sobretudo nestes animais. Os resultados positivos na Fixação do Complemento, observados apenas nos suínos de engorda, poderão estar associados à vacinação, pois os proprietários desses animais declararam vacinar os leitões, um contra a pasteurelose e outro contra o *Haemophilus*. No entanto, CORBEL (1985) cita um trabalho de DIAZ (1973), como não tendo detectado reacções cruzadas entre a *Brucella* e as bactérias do género *Pasteurella* e *Haemophilus*. O mesmo autor põe em causa os resultados obtidos por MALLMANN (1930), que registou reacções cruzadas entre as bactérias do género *Brucella* (*Brucella abortus* e *Brucella suis*) e algumas estirpes do género *Pasteurella* (*Pasteurella boviseptica* e *Pasteurella avicida*).

As lesões observadas no matadouro, sobretudo nos pulmões, assim como o nível higiosanitário das explorações suinículas da região, contribuem igualmente para a aceitação dos resultados obtidos como não resultantes da presença da *Brucella*, mas sim da presença de outras bactérias capazes de reagir com o antigénio brucélico utilizado nos testes sorológicos.

Há no entanto que reconhecer, que a presença da *Brucella* pode ser concorrente com outro tipo de bactérias e a atribuição incorrecta de uma infecção a outros factores que não a *Brucella*, pode resultar na disseminação da infecção no efectivo e entre efectivos.

O isolamento de *Brucella* é um indicador de infecção pouco sensível, sobretudo em animais com infecção natural. ROGERS *et al.* (1989), numa tentativa de isolamento de *Brucella* em 425 suínos domésticos e silváticos, apenas conseguiram como melhor resultado o isolamento da bactéria em 46,2 % dos animais, após terem dividido os animais em quatro grupos, consoante os orgãos colhidos para o exame bacteriológico. CEDRO *et al.* (1977), após ter processado bacteriologicamente 18 tecidos diferentes de suínos infectados experimentalmente com uma estirpe atípica de *Brucella suis* biovar 3, indicou o gânglio hepático como o orgão de eleição para o isolamento de *Brucella*. Este gânglio nunca foi colhido para a bacteriologia, neste trabalho, em nenhum dos suínos. Estes resultados traduzem, no fundo, as dificuldades existentes no diagnóstico bacteriológico da *Brucella*.

É igualmente lícito considerar que os animais submetidos ao controlo sorológico e bacteriológico possam provir de uma exploração infectada sem estarem infectados. NUNN (1981), refere que numa área enzoótica a proporção de efectivos infectados pode ser relativamente grande (30-60 %), mas o número de suínos infectados é geralmente pequeno (5-10 %).

Por outro lado, uma percentagem de suínos recupera da infecção, eliminando totalmente a bactéria do organismo. DEYOE (1972), registou uma recuperação de 75 % das fêmeas num total de 248 reprodutores infectados experimentalmente, enquanto nos machos o isolamento da bactéria nunca excedeu os 50 %. Para FENSTERBANK (1986), no caso de uma recuperação recente da infecção, os mecanismos imunitários podem estar suficientemente sensibilizados para responder aos testes sorológicos. Deste modo, é possível explicar a dissociação entre os resultados obtidos na bacteriologia e os obtidos na sorologia, pelo menos em parte, caso a infecção possa eventualmente estar presente em efectivos da região.

A razão pela qual os títulos obtidos no teste da A.L.T. não terem sido positivos, pode estar relacionada com o facto de ser comum observar-se nos suínos uma diminuição dos títulos aglutinantes com o tempo, sobretudo nos reprodutores, embora se possam manter como portadores. Segundo STUART *et al.* (1987), estes títulos tendem a diminuir com maior rapidez nos suínos do que nos bovinos. CEDRO *et al.* (1977) verificaram que em 25 porcas com cultura de *Brucella* positiva, os títulos na A.L.T. nunca excederam as 50 U.I./ml. NATTERMANN *et al.* (1980) verificaram que em efectivos reprodutores infectados, muitas jovens reprodutoras desenvolviam títulos muito baixos que desapareciam ao fim de 23 meses, em média. NAVARRETE (1979) sublinha que nos

suínos, um título de 25 U.I./ml tem uma maior força de diagnóstico que no caso dos bovinos. Assim, podemos pensar que os resultados por nós obtidos na A.L.T. não têm necessariamente que ser interpretados como indicadores da ausência de brucelose.

O facto de não se ter verificado o crescimento de outro tipo de bactéria nos meios de cultura, leva-nos a considerar a hipótese da utilização de antibióticos na ração, além dos prazos considerados na legislação. Para além do perigo que representa para a Saúde Pública a sua utilização na alimentação animal, os antibióticos actuam como imunosupressores, segundo MUNEER *et al.* (1988), o que pode contribuir para falsear os resultados obtidos.

Assim, embora não tenha sido isolada a *Brucella*, os dados obtidos neste trabalho levam-nos a considerar a necessidade de o continuar, para que seja possível avaliar com maior certeza a presença ou a ausência de *Brucella* nos efectivos suínos da região.

Pela análise dos dados obtidos no inquérito aos suinicultores e pelo conhecimento da região, parece haver outros indicadores da possível existência da infecção ou pelo menos, que podem contribuir para o seu estabelecimento.

Os problemas patológicos existentes nas explorações (Quadro nº17), sem que se conheça em alguns casos a sua etiologia, podem estar relacionados com a presença de brucelose nesses efectivos.

Existe uma grande lacuna sobre o conhecimento dos diferentes agentes etiológicos que são responsáveis pelos inúmeros processos patológicos que afectam as explorações de suínos. Muitos desses processos passam despercebidos ou o diagnóstico é apenas clínico e presuntivo. Os programas de vacinação, na maioria das vezes, são implementados sem que se tenha tipificado o agente em causa, pelo que muitas dessas acções profilácticas se tornam inúteis. A possibilidade de determinar os seroperfis dos suínos de uma exploração face aos vários agentes etiológicos aí presentes, poderá transformar-se numa arma importante, permitindo um melhor conhecimento desses agentes, detectar o aparecimento dos anticorpos e o momento da seroconversão, através de amostragens estratificadas e periódicas, em suínos de várias idades. Os programas sanitários poderão então ser mais eficazes e ao mesmo tempo tornar possível o estabelecimento de um diagnóstico diferencial mais credível, permitindo uma melhor compreensão sobre o próprio diagnóstico da brucelose nos suínos.

O matadouro poderá ser o local onde com alguma facilidade se poderá conhecer o estado sanitário das explorações, pelo número de

animais que diariamente são abatidos com origens muito diversas, e permitir uma visualização das lesões e o seu registo, assim como a colheita de material se mostra muito facilitada. Ao mesmo tempo, os custos das campanhas podem ser substancialmente reduzidos, assim como se torna possível uma melhor racionalização dos meios materiais e humanos.

No distrito de Castelo Branco, um número significativo de suinicultores obtem parte do efectivo de substituição fora da sua exploração, sobretudo reprodutores. Não existindo em Portugal um programa de controlo de brucelose suína, os animais podem circular sem o conhecimento do seu estado sanitário, no que respeita à brucelose. As importações, fazem-se a partir de alguns países onde a brucelose nos suínos já foi declarada. A legislação comunitária apenas exige que os suínos provenham de uma região indemne de brucelose e a seroaglutinação praticada revele um título inferior a 30 U.I./ml. Por aquilo que já foi escrito, parece-nos que esta legislação não é suficiente para garantir, só por si, o controlo da infecção e a certificação da isenção de brucelose dos efectivos de origem.

O número de explorações familiares, em particular as de tipo caseiro, pelo grau de contacto que se estabelece entre os suínos e outras espécies animais susceptíveis à infecção brucélica, devem merecer a atenção por parte das autoridades sanitárias do nosso país. MARTINEZ *et al.* (1989), determinaram um maior número de casos de brucelose humana entre os indivíduos que possuíam explorações deste tipo. A infecção humana pode resultar do contacto directo com os animais, mas a tradicional matança do porco aumenta substancialmente o risco de infecção pelo contacto que o homem tem com os orgãos, com o sangue e outros fluídos do animal.

A presença de animais nas explorações suínas (Quadro nº 19), nomeadamente de javalis nas explorações industriais, nas familiares e nas explorações extensivas, cria condições para a transmissão da infecção. A crise que de um modo geral envolve a agricultura do distrito, tem levado os agricultores a vender as suas terras, sobretudo para o estabelecimento de reservas de caça. O número de reservas e a área ocupada por estas na região tem aumentado significativamente nos últimos dois anos, ocupando terrenos onde outrora pastavam ruminantes. O javali constitui nestas reservas o troféu mais apetecido, pelo que o seu papel como disseminador da infecção deve ser investigado, atendendo ao facto de algumas explorações estarem integradas em reservas de caça. Deste modo, a sua presença nas explorações como foi por nós observado, constitui uma potencial fonte de infecção brucélica para os suínos domésticos.

A inspecção e colheita de material obrigatório nos javalis abatidos, integrado no plano de controlo e erradicação da P.S.A., poderá facilitar a montagem de um esquema de vigilância da brucelose nesta espécie animal.

Os cães têm vindo a assumir uma importância cada vez maior na epidemiologia da brucelose animal e humana, e a possibilidade de transmissão da infecção aos suínos é real (Kormendy e Nagy, 1982). Os cães denotam um apetite caprichoso, não sendo raro observá-los a devorar as secundinas de outros animais, em particular dos ruminantes. Atendendo ao facto de alguns dos suinicultores terem declarado permitir a entrada dos cães no interior das explorações e tendo esse facto sido observado por nós, podemos considerá-los como potenciais fontes de infecção de brucelose para os suínos, pelo menos em algumas explorações. Pelo facto de os cães serem igualmente potenciais fontes de infecção para os ruminantes e para o próprio Homem, urge que sejam integrados nos programas de controlo e erradicação da brucelose. As colheitas de sangue podem ser feitas durante as intervenções obrigatórias nos rebanhos de ruminantes, durante a campanha de vacinação da Raiva e na campanha de erradicação da P.S.A..

Em relação à alimentação, assume particular importância o costume de alimentar os porcos com soro do leite utilizado no fabrico do queijo. PLOMMET *et al.* (1988) referem que a *Brucella* tem tendência para se fixar nos glóbulos de gordura, não sendo provável a sua presença no soro. No entanto, o queijo é muitas vezes fabricado logo após a ordenha, sobretudo de manhã, não sendo o dessoramento muito cuidado, pelo que uma quantidade razoável de gordura pode acompanhar o soro, constituindo uma potencial fonte de infecção para os suínos, que não deve ser descurada.

Pensamos que este trabalho terá contribuído para o estabelecimento de alguns indicadores que poderão ser utilizados no futuro como termos de comparação, não só no diagnóstico da brucelose, como também para o conhecimento dos sistemas de produção de suínos na região, apesar dos resultados aqui obtidos serem escassos e necessitarem de ser apurados.

Numa altura em que se prevê o início da criação de zonas indemnes de brucelose animal, torna-se pois necessário avaliar o estado sanitário de todas as espécies animais que possam de algum modo perpetuar a infecção, pondo em risco o sucesso do programa de erradicação da brucelose nos ruminantes.

CAPÍTULO VI

Conclusões

1 - Não se conseguiu neste trabalho determinar a existência de brucelose em suínos uma vez que não foi isolada a *Brucella* nas amostras colhidas no matadouro, em suínos de engorda e reprodutores.

2 - Foram registados resultados sorológicos positivos nos testes do Rosa Bengala e no da Fixação do Complemento, mas não no teste da Aglutinação Lenta em Tubo. Neste teste, alguns soros apresentaram títulos classificados como suspeitos ou fortemente suspeitos. O não isolamento de *Brucella* impediu a determinação da sensibilidade e da especificidade dos testes sorológicos utilizados.

3 - Os resultados sorológicos só por si não permitem demonstrar a existência ou não de brucelose, mas podem indicar uma possível presença da infecção, pelo que se torna necessário conhecer o estado sanitário dos efectivos de origem dos animais abatidos no matadouro.

4 - Os dados fornecidos pelos suinicultores e o conhecimento obtido nas explorações permitem pensar que se a infecção não existe actualmente, há condições para que a mesma se possa estabelecer nas explorações de suínos, constituindo um risco para a Saúde

Pública e para as outras espécies animais, pelo que as autoridades sanitárias se deverão preocupar no futuro com o controlo da brucelose nos suínos.

5 - Torna-se necessário continuar os estudos, não só para determinar a existência ou não de brucelose nos suínos da região, mas igualmente alargar esse estudo à investigação sobre a presença de outros agentes etiológicos, nomeadamente aqueles que podem interferir no diagnóstico sorológico da brucelose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aldrick, S.J. (1968). Typing of *Brucella* strains from Australia and Papua New Guinea by the regional W.H.O. Brucellosis Center. *Australian Veterinary Journal*, 144: 130-133.

Alexander, T.J.L. (1981). Methods of disease control. *Diseases of Swine*. Editores: A.D. Leman, R.D. Glock, W.L. Mengeling, R.H.C. Penny, E. Scholl e B. Straw. 5ª Ed.. The Iowa State University Press, Ames. pp. 696 - 720.

Allan, G.S. ; Chappel, R.J. ; Williamson, P. e McNaught, D.J. (1976). A quantitative comparison of the sensitivity of serological tests for bovine brucellosis to different antibody classes. *Journ. Hyg.*, 76: 287-298.

Alonso, O. ; Rojas, X. ; Mansilla, H. e Wright, P. (1990). I. Diagnóstico de brucelosis porcina por técnica de Enzimoinmunoensayo en Papel de Nitrocelulosa. *Arch. Med. Vet.*, 22: 129-133.

Alton, G.G. e Gulasekarem, J. (1974). Brucellosis as human health hazard in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 50: 209-215.

Alton, G.G. ; Jones, L.M. ; Angus, R.D. e Verger, J.M. (1988). *Techniques for the Brucellosis Laboratory*. Ed. I.N.R.A.. pp 63-136.

Anderson, W.A. e Davis, C.L. (1957). Nodular splenitis in swine associated with brucellosis. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, **127**: 141--145.

Animal Health Yearbook (1990). F.A.O. - O.I.E.- W.H.O.

Anuário Pecuário (1991). *S.I.M.A.* - I.R.O.M.A. pp. 31-35.

Argote, E. (1970). Diagnosis de la brucellosis porcina mediante la utilización simultânea de las pruebas de Aglutination e fijación del complemento. *Rev. Cub. Ciênc. Vet.*, **1**: 221-225.

Badiola, V.N. (1985). A Study on the incidence of swine brucellosis (*Brucella suis*) in Sadawa Stook Farms, Inc., Southern Davao, Panabo, Davao del Norte. *CMU - Journal of Agriculture, Food and Nutrition*, 7 (4): 257-262.

Bagnat, E. (1980). Brucelosis porcina: un camiño equivocado. *Gac. Vet.*, Buenos Aires, año XLII, **43**: 575-580.

Blood, D.C. ; Radostitis, O.M. e Henderson, J.A. (1983). Diseases caused by Bacteria-III. In *Veterinary Medicine*. 6º Ed.. Ballière Tindall. London. pp. 605-620.

Brewer, R.A. ; Stuart, F.A. e Corbel, M.J. (1983). An Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the detection of antibodies to *Brucella abortus* in porcine sera. *Br. Vet. Jour.*, **139**: 495-500.

Brinley-Morgan, W.J. ; MacKinnon, D.J. e Cullen, G.A. (1969). The Rose Bengal Plate Agglutination Test in diagnosis of brucellosis. *Vet. Rec.*, 85: 636-643.

Bundle, D.R. ; Cherwonogrodzky, J.W. ; Caroff, M. e Perry, M.B. (1987). The Lipopolyssaccharides of *Brucella abortus* and *B.melitensis*. 2nd Forum in Microbiology. *Ann. Inst. Pasteur*, **138**: 92-98.

Cameron, H.S. ; Gregory, P.W. e Hughes, E.H. (1942). Genetic resistance to brucellosis in swine. *Journ. Anim. Sci.*, **1**: 106-110.

Canning, P.C. ; Roth, J.A. e Tabatabai, L.B. (1985). Isolation of components of *Brucella abortus* responsible for inibation of function in bovine neutrophiles. *Journ. Inf. Diseases*, **152**: 913-921.

Canning, P.C. (1989). Phagocyte function in resistance to brucellosis. In *The Second International Symposium on Brucelosis Proceedings*. Texas A&M. pp. 151-163.

Cedro, V.C.F. ; Casás-Olascoaga, R. ; Garcia-Carrillo, C. ; Tomé, J.G. e Bagnat, E. (1977). Brucellosis experimental en porcinos. III - Determinacion de la dosis infectante de uma cepa atípica de *Brucella suis* y evalución de la respuesta sorológica. *Revista de Medicina Veterinária*, 58: 63-71.

Cheville, N.F. ; Rogers, D.G. ; Deyoe, W.L. ; Kasfur, E.S. e Cheville, J.C. (1982). Uptake and excretion of *Brucella abortus* in tissues of the Face Fly (*Musca Autoumnalis*). *Am. Journ. Vet. Res.*, 50: 1302--1306.

Cook, D.R.: Campbell, R.W. e Barrow, G. (1966). Brucellosis in North Queensland rodents. *Australian Veterinary Journal*, **42**: 5-8.

Cook, D.R. e Kingston, G.C. (1988). Isolation of *Brucella suis* biotype 1 from a horse. *Australian Veterinary Journal.*, 65: 162-163.

Cook, D.R. e Noble, J.W. (1984). Isolation of *Brucella suis* from cattle. *Australian Veterinary Journal.*, 61: 263-264.

Corbel, M.J. (1973). Studies on the mechanism of the Rose Bengal Plate Test for bovine Brucellosis. *Br. Vet. Journ.*, **129**: 157-166.

Corbel, M.J. (1985). Recent advances in the study of *Brucella* antigens and their serological cross-Reactions. *The Veterinary Bulletin*, 55: 927- 942.

Corbel, M.J. e Brinley-Morgan, W.J. (1982). Classification of the genus *Brucella*: The current position. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **1**: 281-289.

Corbel, M.J. ; Thomas, E.L. e Garcia-Carrillo, C. (1984). Taxonomic studies on some atypical stains of *Brucella suis*. *Br. Vet. Journ.*, **140**: 34-43.

Corner, L.A.; Alton, G.G. e Iyer, H. (1987). Distribuition of *Brucella abortus* in infected cattle. *Australian Veterinary Journal*, **64** ; 241-244.

Corrêa, W.M. ; Corrêa, C.N.M. e Imaguti, P. (1984). Brucelose canina por *Brucella suis*-1, Atípica. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, **36**: 397--405.

Crichton, R. e Medveczky (1987). The identity, distribuition and epizootiological significance of *Brucella* isolates in Australia, 1981 to 1985. *Australian Veterinary Journal*, **64**: 48-51.

Curier, R.W. (1989). Brucellosis. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, **195**: 595--597.

Das, M.A. (1985). Seroprevalence of yersiniosis and brucellosis among indigenous pigs. *Indian Journal of Animal Sciences*, **55**: 753--758.

Das, M.A. e Murkherjee (1982). Application of supplementary serological tests in the diagnosis of porcine Brucellosis. *Indian Vet. Journ.*, **63**: 1054-1056.

Davis, S.D. (1989). Role of wildlife in transmiting Brucellosis. In *The Second International Symposium on Brucellosis Proceedings*. Texas A&M. pp. 373-385.

Dedek, J. (1983). Epidemiology of Brucellosis in swine, particularly reservoirs of *Brucella suis*. *Monatsheftefur-Veterinarmedizin*, **38**: 852-856.

Deyoe, B.L. (1972). Immunology and Public Health significance of swine Brucellosis. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, **160**: 640-642.

Deyoe, B.L. (1981). Brucellosis. *Diseases of Swine*. Ed. A.D. Leman, R.D. Glock, W.L. Mengeling, R.H.C. Penny, E. Scholl e B. Staw. 5ª Ed.. The Iowa State University Press, Ames. pp. 410-417.

D.G.C.S.P. (1992). Informação pessoal

D.R.A.B.I. (1992). Informação pessoal.

Dubray, G., Limet, J.N., Zygmunt, M.S., Cloeckaert, A. e Jacques, I. (1991). Identification des antigenes protecteurs et le mechanism de la protection. In *Prevention de la brucellosis in mediterranean countries-International Seminar*. C.E.C.-C.I.H.E.A.M., Ministry of Agriculture (Malta). Valletta.

Dubray, G. e Limet, J. (1987). Evidence of heterogeneity of Lipopolysaccharides among *Brucella* Biovars in relation to A and M specificities. Ann. Inst. Pasteur/Microbiol., **138**: 27-37.

Duee, J.P. (1982). Maladies Infectiouses d' appareil reproducteur (Parvovirus, SMEDI and Brucella Infection). In *Les Porcs et ses Maladies*. Ed. P. Mornet, J. Tournout e B. Toma. Mallone, S.A. Editor. Paris. pp. 293-305.

FAO/OMS (1986). Expert Comitee on Brucelosis: Sixth Report. Technical Report Series, World Health Organisation. pp. 740.

Fensterbank, R. (1987). Some aspects of experimental bovine Brucellosis. *Ann. Rech. Vét.*, **18**: 421-428.

Finlay, R.C. ; Roe, R.T. e Kellar, J.A. (1987). National swine brucellosis survey. *Can. Vet. Jour.* 28: 714-716.

Fiocre, B.H. (1990). L' homme révélateur de l' infection brucellique latent du troupeau. *Bull. Acad. Vet. de France*, **63**: 157-160.

Frye, G.H. ; Pickerill, P. e Rodhes, I.T. (1982). A project to determine the feasibility of utilizing cull breeding boars as sentinel animals for swine Brucellosis surveillance. *Proceedings of the United States Animal Health Association*. **86**: 178-180.

Ganiere, J.P. (1990). La Brucellose Animale. Ed. I.N.R.A. e E.N.V.A. Paris.

Godoy, A.M. ; Barg, L. ; Peres, J.N. e Costa, J.O. (1985). *Ixodidae* como reservatório de Brucelose animal. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, **37**: 369-375.

Gomes, J.F. (1983). Colheita de Material. Diagnóstico Laboratorial e Profilaxia. *Rep. Trab. L.N.I.V.*, **número especial**: 16-44.

Grimont, F. ; Verger, J.M. ; Limet, J. ; Lefévre, M. ; Grayon, M. ; Régnault, B. ; Broek, J. Van e Grimont, P.A.D. (1992). Molecular typing of Brucella with cloned DNA probes. *Res. Microbiol.*, **143**: 55-65.

Harrington, R. e Brown, G. (1976). Laboratory summary of *Brucella* isolation and typing. *Am. Journ. Vet. Res.*, **37**: 1241-1243.

Hendricks, S.L. ; Borts, I.H. e Heeren, R.H. (1962). Brucellosis outbreak an Iowa packing house. *Am. Journ. Public Health*, **52**: 1166-1178.

Hillebrabd, E. (1959). El diagnóstico de la Brucelosis en el cerdo. *Archivos de Veterinaria Prática*, **92**: 1-4.

Hubbard, E.D. e Hoerlein, A.B. (1952). Studies on swine Brucellosis. II. Control in farm herds. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, **122** ; 138-143.

Hutchings, L.M. ; Delez, A.L. e Doham, C.R. (1946). Studies of brucellosis of swine. II Exposures and re-exposures experiments with *Brucella suis*. *Am. Journ. Vet. Res.*, **11**: 11-20.

Hutyra, F. ; Marek, J. ; Manniger, R. e Mócsy, J. (1973). Brucellosis. *Patologia y Terapêutica Especiales de Los Animales Domésticos*. Vol. 1. Editorial Labor, S.A.. pp. 813-847.

Jones, C.J. e Hunt, D.R. (1983).Diseases due to simple bacteria. In *Veterinary Pathology*. 5º Ed.. Lea & Febiger. Philadelphia. pp.182--187 e 610-614.

Kaneene, J.M. ; Anderson, R.K. ; Johnson, D.W. ; Angus, R.D. ; Muscoplat, C.C. ; Pietz, D.E. ; Vanderwagon, L.C. e Sloane, E.E. (1978). Cell-mediated immune responses in swine from a herd infected with *Brucella suis*. *Am. Jour. Vet. Res.*, **39**: 1607-1611.

Koller, R. (1960). Aspetti della brucellosi nelle varie especie animali. *Gazzetta Veterinaria*, **2**: 31-32.

Kormendy, B. e Nagy, Gy. (1982). The supposed involvement of dogs carrying *Brucella suis* in the spread of swine brucellosis. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, **30**: 3-7.

Kumar, R. e Rao, C.V.N. (1980). Porcine brucellosis in Tamil Nadu. *Indian Veterinary Journal*, **57**: 4-8.

Lannegger, J. ; Lannegger, C.H. e Cueva,V.E.C. (1972). Abcessos na gordura peri-renal causados por *Brucella suis* em suínos infestados por *Stephanurus dentatus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, série Veterinária*, **7**: 15-18.

Leon-Vizcaíno, L. ; Garcia Perez, M. e Miranda Garcia, A. (1976). Abortos porcinos por *Brucella suis*, biotipo 2. *Supplento Cientifico del Boletin Informativo del Consejo General de Colegios Veterinários de España*, **206**: 37-42.

Manthel C.A. ; Mingle, C.K. e Carter, R.W. (1952). *Brucella suis* infections in suckling and weaned pigs. *Journ. Am. Vet. Med. Ass.*, **121**: 373-382.

Marshang, F. e Ciocola, T. (1970). La Brucellose dans les élevages de porcs. *Informations de Médecine Vétérinaire*, 2: 109-122.

Martin, S.W. ; Meek, A.L. e Williberg, P. (1988). In *Veterinary Epidemiology. Principles and Methods*. 2ª Ed. Iowa State University Press, Ames.

Martinez, E. ; Valdéz, J.A. ; Roman, J.L e Rodriguez, M. (1989). Ecosistema de Brucellosis Animal y Humana en el Municipio de Consolación del Sur, Provincia de Pinar Del Rio, Cuba. *Cienc. Tec. Agric., Veterinaria*, 11: 17-24.

Meyer, M.E. (1964). The epizootology of brucellosis and its relationship to the identification of *Brucella* organisms. *Am. Journ. Vet. Res.*, 25: 553-557.

Meyer, M.E. (1966). Identification and virulence of *Brucella* strains isolated in Eskimos and Reindeer in Alaska, Canada and Russia. *Am. Journ. Vet. Res.*, 27: 353-358.

Meyer, M.E. e Cameron, H.S. (1963). Identification of the causative agents and the epidemiology of porcine brucellosis. *Bull. W.H.O.*, 28: 449-503.

McEntee, K. (1970). The Female Genital System. In *Pathology of Domestic Animals*. Vol. 1. Second Edition. K.V.F. Judd e P. C. Kennedy Editores. Academic Press, Inc. London. pp. 528-533.

Miranda, J.C.B. de ; Sei, V.L.B. ; Giorgi, W. ; Sandoral, L.A. ; Teruya, J.M. e Miranda, J.C.B. de (1978). Isolamento de *Brucella suis* em rebanho suíno infectado, associado a contaminação canina e humana. *Biológico*, 44: 205-210.

Mittall, K.R. e Tizard, I.R. (1981). Serologic response of pigs to experimental infection with *Yersinia enterocolitica* serotype 09 and *Brucella abortus*. *Am. Jour. Vet. Res.*, 42: 443- 446.

Moreira, W.S. ; Flôres, M.L. e Silveira, P.R. (1988). Comparação de seis provas sorológicas, em suínos, no diagnóstico da Brucelose. *Rev. Centro de Ciências Rurais*, Santa Maria, **18**: 249-254.

Morris, J.A. (1982). Modern diagnostic methods in pratice. Immunodiagnostic techniques in veterinary microbiology. *Br. Vet. Journ.*, **138**: 1-6.

Muirhead, M.R. (1987). Reproductive tract problems and infertility in the sow. In *Pig Veterinary Society Proceedings*, **19**: 7-34.

Muneer, M.A. ; Farah, I.O. ; Newman, J.A. e Goyal, S.M. (1988). Immunosupression in Animals. *Br. Vet. Jour.*, **144**: 288-301.

Nattermann, H. ; Horsh, F. e Zimmermann, H. (1980). *Yersinia enterocolitica* infection in pigs units and their significance for diferencial diagnosis. *Monastshefte fur Veternarmedizin*, **35**: 225--227.

Navarrete, S.M.G. (1979). Evaluacion Serologica de Brucelosis en Cerdos del Corregimento de Cacoatal Departamento de Cordoba. *Revista I.C.A.*, 14: 25-31.

Norton, J.H. e Thomas, A.D. (1979). *Brucella suis* infection in pregnant cattle. *Australian Veterinary Journal*, **55**: 525-527.

Nunn, M.J. (1982). Porcine Brucellosis. *Proceedings of the 1981 Veterinary Officers' Conference*, National Laboratory, Kila-Kila, 17th - 19 th. Papua New Guiné. pp. 67-70.

Peres, J.N. ; Godoy, A.M. ; Barg, L. e Costa, J.O. (1981). Isolamento de *Brucella canis* de Carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*). *Arq. Esc. Vet. U.F.M.G.*, Belo Horizonte, **33**: 51-55.

Plommet, M. ; Fensterbank, R. ; Vassal, L. ; Avelair, J. e Mocquot, G. (1988). Survival of *Brucella abortus* in ripened soft cheese made from naturaly infected cows. *Le Lait*, 68 ; 115-120.

Ray, W.C. (1979). Brucellosis (Due to Brucella abortus and Br. suis) I. In *CRC Handbook Series in Zoonosis, Section A: Bacterial, Rickettsial and Mycotic Diseases*. Vol. 1. Editor-in- Cheef: J.H. Steele. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp. 99-183.

Raybould, T.J.G. (1982). Antigens of diagnostic significance in *Brucella abortus*. *Can. Journ. Microbiol.*, **28**: 557-566.

Rietschel, E.T. e Brade, H. (1992). Bacterial Endotoxine. *Scientific American.*, **267** (2): 26-33.

Rogers, R.J. ; Cook, D.R. ; Ketterer, P.J. ; Baldock, F.C. ; Blackall, P.J. e Stewart, R.W. (1989). An evaluation of three serological tests for antibody to *Brucella suis* in pigs. *Autralian Veterinary Journal*, 66 ; 77-80.

Sharda, M.L. e Helin, I (1988). Probable transmission of brucellosis from breast milk to a newborn. *Tropical and Geographical Medicine*, **40**: 151-152.

Smith III, R. (1989). T lymphocyte-mediated mechanisms of acquired protective immunity against brucellosis in cattle. In *The Second International Symposium on Brucellosis Proceedings*. Texas A&M. pp. 164-190.

Soares, M. ; Geers, R. e Costa, J. (1992). A fileira do porco em Portugal. *O Suinicultor*, 8: 5-10.

Sowa, B.A. (1989). Membrane Proteins of *Brucella* spp.. *The Second International Symposium on Brucellosis Proceedings*. Texas A&M. Cap. . pp. 89-105.

Stuart, A.F. ; Corbel, M.J. e Brewer, R.A.(1987). Experimental *Brucella abortus* infection in pigs. *Veterinary Microbiology*, **14**: 365-379.

Sutherland, S.S. (1980). Immunology of bovine brucellosis. *The Veterinary Bulletin*, 50: 359-367.

Szyfris, B. (1951). La brucelosis animal en los EE.UU. de Norte--América. *Rev. de Med. Veter. del Uruguay*. Año XXVI, 50: 15-24.

Teixeira, M. e Gomes, J.F. (1974). La lutte contre la brucellose caprine au Portugal. XLII[a] Session Général, Rapport nº 1585. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 82: 3-23.

Templeton, J.W. e Adams, G.L. (1989). Natural resistance to bovine brucellosis. *The Second International Symposium on brucellosis*. Texas A&M. pp. 144-150.

Teyssou, R. ; Morvan, J. ; Leleu, J.P. ; Roumegou, P. ; Goullin, B. e Carteron, B. (1989). A propos d'un cas de brucellose humaine a *Brucella suis* biovar 2. *Médecine et Maladies Infectiouses*, 19: 160--161.

Thoen, C.O. e Enright, F. (1986). *Brucella*. In *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animal*. Carlton L. Gyles and Charles. O. Thoen Editors. Iowa State University Press, Ames. pp. 160-171.

Thoen, C.O. ; Hopkins, M.P. ; Armbrust, A.L. e Angus, R.D. (1980). Development of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for detecting antibodies in sera of *Brucella suis*-Infected Swine. *Can. Jour. Comp. Med.*, 44: 294-298.

Thomas, E.L. e Corbel, M.J. (1982). Differentiation of *Brucella suis* Biotype 4 from others biotypes by Firenza phage. *Br. Vet. Journ.*, 138: 11-17.

Tovar, R.M. (1947). Infection and transmission of *Brucella* by ectoparasites. *Am. Journ. Vet. Res.*, 8 ; 138- 140.

U.S.D.A. (1986). Brucellosis Eradication. Uniform Methods and Rules. *APHIS 91-1*. Veterinary Services.

Vallete, L. (1985). Prophylaxie medicale de la brucelose animale. *La Rage et la Brucelose*. Fundacion Marcel Merieux. Paris. pp. 63--72.

Verger, J.M. e Graynon, M. (1991). Contribuition de la biologie moleculaire à la taxonomie du genre *Brucella*. In *Pevention of brucellosis in mediterranean countries-Intenational Seminar*. C.E.C.--C.I.H.E.A.M., Ministry of Agriculture (Malta). Valletta

Walton, J.R. (1992). Patología de la Reproducción y sus Implicationes en la Eficácia de la Producción Porcina. In *Simposio International de Porcinicultura - SEPOR' 92*. Lorca, Murcia. pp. 113-121.

Washko, F.V., Hutchings, L.M., Donham, C.R. (1948). Studies on the pathogenicity of *Brucella suis* for cattle I. *Am. Jour. Vet. Res.*, 9: 342-350.

Washko, F.V. ; Bay, W.W. ; Donham, C.R. e Hutchings, L.M. (1951). Studies on the pathogenicity of *Brucella abortus* for swine. I. *Am. Jour. Vet. Res.*, **12**: 320-323.

Wilson, G. e Smith, G. (1984). *Brucella* Infection of Swine. *Brucella* Infection of Man and Animals, *Campylobacter* Abortion, and Contagious Equine Metrites. In *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity*. Vol. 3 - Bacterial Diseases. Editores G.R. Smith e Edward Arnold . 7ª Edição. pp. 141-169.

Winter, A.J. (1989). Mechanisms of protective immunity against *Brucella abortus* in the mouse model system of infection. *The Second International Symposium on Brucellosis Proceedings*. Texas A&M. pp. 137-143.

Wright, P.F. e Nielsen, K.H. (1989). Current and future serological methods. In*The Second International Symposium on Brucellosis Proceedings*. Texas A&M. pp. 306-320.

Yantzis, D. e Kastadinou, C. (1990). Isolation of *Brucella suis* in fetuses. First case in Greece. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society*, **42**: 100-106.

Zygmont, S.M. ; Nettles, V.F. ; Shotts, E.B. ; Carmen, W.A. e Blackburn, B.O. (1982). Brucellosis in Wild Swine: A serologic and bacteriologic survey in Southeastern United States and Hawaii. *Journ. Am. Vet. Med. Ass.*, 181: 1285-1287.

ANEXOS

Anexo I

Quadro 20 - Bovinos saneados na área da DRABI - ZIS 11

ANO	INSPECCIONADOS		REAGENTES			
			BOVINOS		REBANHOS	
	BOVINOS	REBANHOS	Nº	%	Nº	%
1989	37526	5844	266	0,7	170	2,9
1990	31106	5105	140	0,45	81	1,58
1991	36824	6137	158	0,42	117	1,9
1992	26267	4375	53	0,2	35	0,8

FONTE : DRABI

ZIS 11 - CONCELHOS: Mação; Proença a Nova; Oleiros; Sertã; Vila de Rei; Castelo Branco; Vila Velha de Rodão; Idanha a Nova; Penamacor; Belmonte; Covilhã; Fundão; Sabugal

Quadro 21 - Ovinos saneados na área da DRABI - ZIS 11 (1989)

CONCELHOS	INSPECCIONADOS		REAGENTES			
			OVINOS		REBANHOS	
	OVINOS	REBANHOS	Nº	%	Nº	%
MAÇÃO	509	15	22	4,32	4	26,66
PROENÇA-NOVA	50899	409	964	1,78	131	31,26
C. BRANCO	4042	39	50	1,23	10	25,64
V.V.RODÃO	57379	435	1868	3,25	145	33,33
IDANHA	8392	76	640	7,62	36	47,36
PENAMACOR	11499	110	512	4,45	69	62,72
COVILHÃ	25421	229	1190	4,68	133	58,07
FUNDÃO						

FONTE : DRABI

Quadro 22 - Ovinos saneados na área da DRABI - ZIS 11 (1990)

CONCELHOS	INSPECCIONADOS		REAGENTES			
			OVINOS		REBANHOS	
	OVINOS	REBANHOS	Nº	%	Nº	%
MAÇÃO	1470	50	84	5,71	7	14
PROENÇA-NOVA	347	29	2	0,57	2	6,89
C. BRANCO	62224	572	755	1,21	135	23,6
V.V.RODÃO	5427	65	28	0,51	12	18,46
IDANHA	76544	496	1791	2,33	157	31,65
PENAMACOR	6563	109	221	3,36	28	25,68
COVILHÃ	20107	165	584	2,9	82	49,69
FUNDÃO	44541	392	1509	3,38	156	39,79

FONTE : DRABI

Quadro 23 - Ovinos saneados na área da DRABI - ZIS 11 (1991)

CONCELHOS	INSPECCIONADOS		REAGENTES			
			OVINOS		REBANHOS	
	OVINOS	REBANHOS	Nº	%	Nº	%
MAÇÃO	1709	48	50	2,92	8	16,66
PROENÇA-NOVA	477	38	3	0,62	3	7,89
C. BRANCO	92302	565	965	1,04	207	36,63
V.V.RODÃO	5348	64	21	0,39	14	21,87
IDANHA	100996	470	1406	1,39	234	49,78
PENAMACOR	6183	44	212	3,42	24	54,54
COVILHÃ	20699	178	753	3,63	99	55,61
FUNDÃO	41399	291	1518	3,66	151	51,89

FONTE : DRABI

Quadro 24 - Ovinos saneados na área da DRABI - ZIS 11 (1992)

CONCELHOS	INSPECCIONADOS		REAGENTES			
			OVINOS		REBANHOS	
	OVINOS	REBANHOS	Nº	%	Nº	%
MAÇÃO	-	-	-	-	-	-
PROENÇA-NOVA	722	7	-	-	-	-
C. BRANCO	35303	295	268	0,75	63	21,35
V.V.RODÃO	3870	35	10	0,25	5	14,28
IDANHA	61749	447	254	0,41	70	15,65
PENAMACOR	6982	60	342	4,89	29	48,33
COVILHÃ	9729	83	711	7,3	39	46,98
FUNDÃO	19065	164	676	3,54	47	28,65

FONTE : DRABI (Agosto 1992)

Quadro 25 - Caprinos saneados na área da DRABI - ZIS 11 (1989)

CONCELHOS	INSPECCIONADOS		REAGENTES			
			CAPRINOS		REBANHOS	
	CAPRINOS	REBANHOS	Nº	%	Nº	%
MAÇÃO	3927	982	41	1,04	36	3,66
PROENÇA-NOVA	7727	1263	50	0,64	46	3,64
C. BRANCO	16670	1432	108	0,64	53	3,7
V.V.RODÃO	3821	429	12	0,31	10	2,33
IDANHA	11821	469	147	1,24	45	9,59
PENAMACOR	5201	113	115	2,21	30	26,54
COVILHÃ	5230	342	195	3,72	29	8,47
FUNDÃO	6097	471	130	2,13	35	7,43

FONTE : DRABI

Quadro 26 - Caprinos saneados na área da DRABI - ZIS 11 (1990)

CONCELHOS	INSPECCIONADOS		REAGENTES			
			CAPRINOS		REBANHOS	
	CAPRINOS	REBANHOS	Nº	%	Nº	%
MAÇÃO	4885	891	71	1,45	53	5,94
PROENÇA-NOVA	8133	1137	71	0,87	56	4,92
C. BRANCO	13363	1387	125	0,93	44	3,17
V.V.RODÃO	4542	493	64	1,4	31	6,28
IDANHA	9016	454	291	3,22	52	11,45
PENAMACOR	6575	450	113	1,71	24	5,33
COVILHÃ	6950	443	252	3,62	33	7,44
FUNDÃO	8284	795	276	3,33	72	9,05

FONTE : DRABI

Quadro 27 - Caprinos saneados na área da DRABI - ZIS 11 (1991)

CONCELHOS	INSPECCIONADOS		REAGENTES			
			CAPRINOS		REBANHOS	
	CAPRINOS	REBANHOS	Nº	%	Nº	%
MAÇÃO	3927	982	41	1,04	36	3,66
PROENÇA-NOVA	7727	1263	50	0,64	46	3,64
C. BRANCO	16670	1432	108	0,64	53	3,7
V.V.RODÃO	3821	429	12	0,31	10	2,33
IDANHA	11821	469	147	1,24	45	9,59
PENAMACOR	5201	113	115	2,21	30	26,54
COVILHÃ	5130	342	195	3,72	29	8,47
FUNDÃO	6097	471	130	2,13	35	7,43

FONTE : DRABI

Quadro 28 - Caprinos saneados na área da DRABI - ZIS 11 (1992)

CONCELHOS	INSPECCIONADOS		REAGENTES			
			CAPRINOS		REBANHOS	
	CAPRINOS	REBANHOS	Nº	%	Nº	%
MAÇÃO	-	-	-	-	-	-
PROENÇA-NOVA	5617	701	2	0,03	1	0,14
C. BRANCO	12212	1899	78	0,63	16	0,84
V.V.RODÃO	3934	490	5	0,12	3	0,61
IDANHA	5780	657	16	0,27	9	0,36
PENAMACOR	6289	782	110	1,74	22	2,81
COVILHÃ	2950	368	180	6,1	27	7,33
FUNDÃO	1752	217	41	2,34	9	4,14

FONTE : DRABI (Agosto 1992)

Anexo II

PROVA DE AGLUTINAÇÃO LENTA (PROVA DE WRIGHT-SMITH)

MATERIAL

- Suportes para tubos
- Tubos de hemólise
- Pipetas de hemólise
- Pipetas automáticas
- Reómetros tipo Cornwall ou pipetas graduadas a 1/100, de 0,5 ml, 1 ml e 2 ml.
- Estufa a 37 ° C.

REAGENTES

- Soros a examinar
- Soros testemunha positivo, duvidoso e negativo
- Antigénio para a prova de Aglutinação Lenta, fornecido pelo L.N.I.V.

TÉCNICA

PROVA

- Realizar a prova em tubos
- Efectuar 4 diluições dos soros a examinar, em solução fisiológica fenicada:

NaCl ———————— 0,85 g para 100 ml
Fenol———————— 0,5 g para 100 ml, segundo o seguinte esquema:

	1	2	3	4
SORO(ml)	0,2			
SOLFISOL FENIC.(ml)	0,8	0,5	0,5	0,5
DILINICIAIS DO SORO	1/5	1/10	1/20	1/40

Adicionar 0.5 ml de antigénio em todos os tubos:

ANTIGÉNIO(ml)	0,5	0,5	0,5	0,5
DILFINAIS DO SORO	1/10	1/20	1/40	1/80

- Agitar vigorosamente os tubo
- Colocar os suportes 18 a 20 horas na estufa a 37 ° C

LEITURA

- Testemunhas:

A leitura corresponde à diluição mais elevada do soro para a qual se observa uma opacidade de pelo menos 25 % (+).

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA BRUCELOSE
PROVA DA FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO
(MICROTÉCNICA)

PROTOCOLO L.N.I.V.

Nesta prova utilizam-se duas unidades hemolíticas de hemolisina (U.H.H.), 2 unidades antigénicas (U.A.) e glóbulos vermelhos de carneiro.

1- Preparação dos glóbulos vermelhos:

- Colher sangue de carneiro assepticamente para soluto de Alsever:

SOLUTO A

- Glucose ———————— 20,5g
- Água destilada ——— 200 ml

SOLUTO B

- Citrato de sódio —— 2g
- Cloreto de sódio —— 4,2g
- Água destilada ——— 800ml

Ajustar o pH do SOLUTO B a 6,1, com ácido cítrico a 5 %.
Juntar as duas soluções e filtrar por Seitz.
Deixar estabilizar pelo menos 24 horas.
Para a prova, retirar a quantidade julgada necessária.
Fazer duas lavagens em tampão veronal (T.V.), por centrifugação a 1000 r.p.m. durante 10'.
Fazer terceira lavagem a 1000 r.p.m. durante 10'.
Ressuspender o sedimento de glóbulos a 3 % em T.V..
Para fazer a sensibilização dos glóbulos, juntar-lhes volume igual de hemolisina diluída a 2 unidades e incubar a 37° C durante 30'.

2 - Titulações

2.1 - Hemolisina

Fazer diluições da hemolisina segundo o seguinte esquema:

TUBO	DILUIÇ.	DIL/MÃE 1:1000	T.V.
1	1:1000	1ml	-
2	1:2000	1ml	1ml
3	1:3000	0,5ml	1ml
4	1:4000	0,5ml	1,5ml
5	1:5000	0,5ml	2ml
6	1:6000	0,5ml	2,5ml
7	1:7000	0,5ml	3ml
8	1:8000	0,2ml	1,4ml
9	1:9000	0,2ml	1,6ml
10	1:10000	0,2ml	1,8ml

De cada diluição retirar 0,25ml para um tubo de hemólise.
A cada tubo juntar 0,25 ml de glóbulos vermelhos de carneiro a 3 %.
Incubar em banho-Maria a 37° C, durante 30' com agitação aos 15'.
Centrifugar os tubos a 1500-2000 r.p.m., durante 2'.
1 U.H.H. é a mais alta diluição em que se verifica hemólise total. Na prova empregam-se 2 U.H.H.. Assim, se 1 U.H.H. estiver contida na diluição 1:8000, deve utilizar-se a hemolisina a 1:4000 (2 unidades hemolíticas).

2.2 - Complemento

Segundo técnica padronizada proposta pelo grupo de trabalho sobre o diagnóstico sorológico da Clamidiose (reunião de 13 de Março de 1978).

O esquema é o seguinte:

Faz-se uma primeira série de diluições de complemento em tubo de hemólise.

TUBO	1	2	3	4	5	6
TAMPÃO	1,45	1,7O	1,95	2,2O	2,45	2,7O
COMPLEM.(ml)	50	50	50	50	50	50
DILUIÇÃO FINAL	1:30	1:35	1:40	1:45	1:50	1:55

A partir de cada uma delas, fazem-se mais duas em progressão geométrica de razão 2 (em tubo) e passam-se à placa de 25 µl de cada, segundo a ordem abaixo indicada:

CÚPULAS	DILUIÇÃO
C6 E C12	1:220
C5 E C11	1:200
C4 E C10	1:180
C3 E C9	1:160
C2 E C8	1:140
C1 E C7	1:120
B6 E B12	1:110
B5 E B11	1:100
B4 E B10	1:90
B3 E B9	1:80
B2 E B8	1:70
B1 E B7	1:60
A6 E A12	1:55
A5 E A11	1:50
A4 E A10	1:45
A3 E A9	1:40
A2 E A8	1:35
A1 E A7	1:30

Adiciona-se 25 µl de antigénio titulado a duas unidades.
Incubação a 37° C durante 30'.
25 µl de glóbulos sensibilizados

2.3 - Antigénio

O antigénio é o da aglutinação lenta, titulado contra um soro positivo de título conhecido e em presença de duas unidades de complemento.

As diluições do soro e do antigénio são feitas em tubo e transferidas para a placa na razão de 25 µl cada uma às quais se junta 25 µl de complemento. Depois de incubação a 37° C durante 30', distribui-se 25 µl de glóbulos sensibilizados em cada cúpula, seguindo-se nova incubação.

Uma unidade antigénica é a diluição mais alta de antigénio que fixa a totalidade do complemento em presença da mais alta diluição do soro.

Nesta prova deve haver o controlo de glóbulos (75 µl de T.V. + 25 µl de glóbulos). Com 2 e 1 U.H.C. deverá haver hemólise a 100 %. A meia U.H.C., deverá corresponder a 25 a 50 % de hemólise.

3-Prova

Os soros são inactivados:

- Bovinos - 58° C durante 30'
- Pequenos ruminantes - 62° C durante 30' depois de diluídos a 1:4
- Suínos - 62° C durante 40 a 45'
- Cada soro é testado na diluição de 1:4, sem testemunhagem do poder anticomplementar. Qualquer resultado que faça suspeitar de reacção, mesmo que inferior a 25 % deve ser tomado em consideração, em termos de se repetir a prova. Nesta repetição, dilui-se o soro a 1:4, 1:8 e 1:16, com testemunhagem do poder anticomplementar nas três diluições, sendo as diluições feitas na placa com pipetas automáticas.
- A 25 µl de cada diluição, junta-se 25 µl de complemento e 25 µl de antigénio.
- Segue-se a incubação a 37° C durante 30' com agitação aos 15'.

Critério de Selecção	
+++-/4 ou sup.	Pos.
++-/4 ou inf.	Neg.

PROVA DO ANTIGÉNIO TAMPONADO OU ROSA BENGALA

MATERIAL

- Placa de vidro branco. Na altura da sua utilização, esta placa deve encontrar-se desinfectada, seca e à temperatura ambiente.
- Vareta, de vidro ou de madeira, para funcionar como misturadora.
- Micropipetas automáticas.
- Cones de plástico descartáveis (a usar uma só vez).
- Contagotas calibrado.
- Cronómetro ou relógio conta-minutos.

REAGENTES

- Antigénio corado pelo Rosa Bengala fornecido pelo L.N.I.V. e preparado de acordo com o estabelecido nos nºs 4.1.4, 4.1.5, 4.1.6, 4.1.7 e 4.1.8 do anexo F da Portaria nº 467/90, de 22 de Junho, publicado no Diário da República, I série, 22/6/90.
- Soros a examinar
- Soros - testemunhas positivos e negativos.
- Solução salina isotónica (NaCl: 0,85g/100 ml de água destilada).

TÉCNICA

- Os soros a examinar e o antigénio necessário para a prova deverão manter-se à temperatura ambiente durante 30 minutos, depois de retirados do frigorífico.
- Distribuem-se os soros sobre a placa, havendo o cuidado de medir rigorosamente o volume de 0,03 ml e de colocá-lo em uma só gota.
- Distribui-se o antigénio usando do mesmo rigor para a medição de 0,03 ml. A gota de antigénio deve ser colocada ao lado do soro.
- As quantidades de soro e antigénio devem ser exactamente iguais: 0,03 ml de soro + 0,03 ml de antigénio.

- Utilizando a vareta, mistura-se rapidamente o soro e o antigénio, primeiro em linha recta e depois em movimentos circulares.
- O círculo da mistura deve ter entre 10 mm e 12 mm de diâmetro
- Marca-se no cronómetro o tempo estabelecido para a reacção: 4 minutos.
- Efectuam-se 3 a 4 rotações da placa para cada lado, de modo a que os líquidos circulem um pouco, uniformizando o tamanho da gota.

  Continua-se fazendo ligeiros movimentos de vai-vém até ao termo do tempo de reacção.

TESTEMUNHAS

Para cada série de placas devem fazer-se:

- Um soro testemunha positivo;
- Um soro testemunha negativo;
- Uma testemunha de solução isotónica, para controlo da autoaglutinabilidade do antigénio.

LEITURA DA PROVA

Esta prova foi estabelecida para um tempo de reacção de 4 minutos, razão pela qual a leitura deverá ser feita pela mesma ordem em que se efectuaram as misturas e o mais rapidamente possível, de modo a obter o menos tempo de reacção para todas as amostras. Nestas circunstâncias, a leitura de uma placa completa não deve exceder os 20 segundos.

Não são de considerar as aglutinações que por ventura surjam depois de 4 minutos.

A leitura deve ser feita a olho nú e com boa iluminação.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

- Ausência de aglutinados - resultado negativo
- Presença de aglutinados (mesmo muito fino) - resultado positivo.

Anexo III

INQUÉRITO ÀS EXPLORAÇÕES SUINICULAS

Marca da exploração ☐

Concelho _____

Freguesia _____

Tipo de Exploração:

Industrial ☐ Extensiva ☐ Semi-extensiva ☐
Familiar ☐ Tipo Caseiro ☐

Origem do efectivo:

Da própria exploração ☐
Compra de reprodutores ☐ Da região ☐ Fora da região ☐
Compra de Leitões ☐ Da região ☐ Fora da região ☐
Importação ☐ Machos ☐ Fêmeas ☐

Alimentação:

Alimentos Compostos ☐
Alimentos da própria exploração ☐ Lavagens ☐
Restos de cozinha de estabelecimentos colectivos ☐
Pastoreio ☐ Outro ☐

Média de leitões por porca ao desmame

Patologia:

Abortos ☐ Nado-mortos ☐ Morte nos 1os dias de vida ☐
Retenção placentária ☐ Metrites ☐ Retorno de cios ☐
Artrites ☐ Orquites ☐ Paralisia dos membros posteriores ☐
Teve em algum ano um surto de aborto ☐ Ano ☐
Diagnóstico _____

Motivo de abate dos reprodutores:

Idade ☐ Ninhadas pequenas ☐ Aborto ☐
Nº de gestações ☐ Retorno de Cio ☐
Orquite ☐ Outro(s) motivo(s) _____

Vacinações:

Reprodutores:

Rinite Atrófica ☐ Doença de Aujeszky ☐
Parvovirose ☐ Pasteurelose ☐ Colibacilose ☐
Mal Rubro ☐ Outras _____

Porcos de Engorda:

_____ idade _____
_____ idade _____
_____ idade _____

Revacinação:

_____ idade _____
_____ idade _____
_____ idade _____

Existem outros animais na exploração:

Bovinos ☐ Ovinos ☐ Caprinos ☐ Cães ☐
Lebres ☐ Ratos ☐ Javalis ☐

Houve algum caso de brucelose nesses animais

Ano ☐ Nº de animais ☐

Esses animais tem algum contacto com os suínos ☐

Os trabalhadores contactam com outros animais ☐

Foi registado algum caso de brucelose entre os trabalhadores da exploração ☐ Ano ☐☐☐☐