

BRUCELOSE HUMANA REEMERGE COMO PREOCUPANTE DOENÇA OCUPACIONAL

Dra. Margareth Elide Genovez

médica-veterinária, CRMV 2067-SP, Pesquisadora Científica VI e Docente de Pós Graduação em Enfermidades infecciosas e parasitárias que afetam a reprodução de animais de produção do Instituto Biológico, SAA-SP., megenovez.vet@uol.com.br

Caracterizada como importante zoonose de distribuição mundial, causada pelo gênero *Brucella spp.*, a brucelose é um sério problema de saúde pública. Quatro espécies podem causar infecção em humanos: *Brucella abortus*, *B. canis*, *B. suis* e *B. melitensis*; esta última embora não detectada no Brasil, é responsável pela doença clínica mais severa.

A incidência da brucelose humana varia predominantemente com a prevalência regional da enfermidade em animais de produção: bovinos, ovinos, caprinos, suínos e equinos. Com menos frequência, os cães assumem algum risco de transmissão doméstica ou mesmo ocupacional.

Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS), atualmente, a verdadeira incidência da brucelose humana pode ser cinco ou mais vezes superior aos números oficiais; uma vez que é subdiagnosticada e subnotificada. Estimam-se cerca de 500.000 casos de infecção humana ao ano no mundo.

O consumo de leite não pasteurizado e seus derivados e de carne *in natura* provenientes de animais infectados e doentes, transmite a infecção ao homem. A capacidade da bactéria se manter viável em queijos frescos e curados por cerca de 100 dias, mostrou ser possível fonte de infecção para o homem.

A brucelose humana reemerge como preocupante doença ocupacional, notadamente para médicos veterinários, inseminadores, auxiliares de campo, ordenhadores e magarefes entre outros. Os suscetíveis, neste caso, infectam-se pela lida com animais doentes e portadores, onde ocorre contato direto com descargas uterinas, produtos de abortamento, carcaças infectadas, urina, sêmen; ou por meio de procedimentos de necropsias, acidentes laboratoriais nos centros de diagnóstico e com a manipulação a campo da vacina B19 ou RB51.; e ainda pelo contato indireto com utensílios e ambiente contaminado com brucelas. A inalação de aerossóis durante a excreção urinária dos animais ou aqueles produzidos acidentalmente na execução de procedimentos laboratoriais e de necropsias assumem enorme importância na infecção humana.

Soluções de continuidade cutâneas e mucosas como orofaríngea, nasal, gastrointestinal e geniturinária se

constituem em portas de entrada das brucelas, cuja dose infectante extremamente baixa, da ordem de 10 microrganismos pode conduzir a infecção. A OMS classificou a bactéria de grau III no Manual de Biossegurança em Laboratório por sua elevada virulência, e preconizou que os procedimentos de segurança mínimos para o manuseio de amostras e culturas sejam realizados em câmaras de fluxo laminar de tipos II ou III.

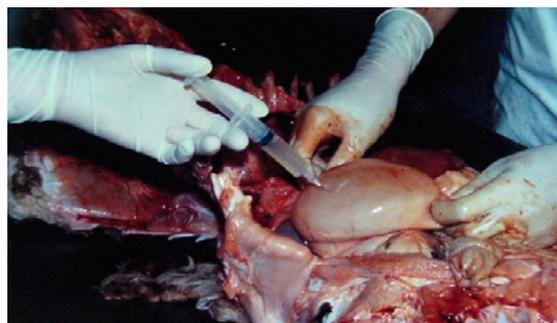


Figura 1: Aspiração de conteúdo abomasal de feto bovino durante necropsia

Em 2001, o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento –MAPA instituiu o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose passando a ser obrigatória a vacinação com amostra B19 de fêmeas bovinas e bubalinas entre 3 e 8 meses de idade. Em 2007, foram estabelecidas as condições para a vacinação de fêmeas bovinas contra brucelose, utilizando vacina amostra RB51.

Denota-se que as vacas vacinadas são capazes de excretar pela urina e pelo leite, de forma intermitente e por toda vida, a estirpe vacinal B19, atenuada para os bovinos, mas patogênica para o homem. Em caso de acidentes vacinais ou



Figura 2: Condição laboratorial de segurança mínima para manipulação de *Brucella spp*

Quadro 1: Características da vacinas B19 e RB 51 empregadas no Programa de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose Bovina (PCEBT) – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento –MAPA, Brasil

B19	RB 51
<i>Brucella abortus</i> , estirpe 1119 L, mutante lisa com parte do gene <i>eryA</i> ausente	<i>Brucella abortus</i> , estirpe 2308, mutante rugosa por sucessivas passagens em rifampicina ou penicilina.
Uso permitido: Fêmeas 3 a 8 meses	Uso permitido: Fêmeas > 8 meses não vacinadas B19 (vazias) Fêmeas adultas, não reagentes, focos
Uso proibido: Machos de qualquer idade Fêmeas adultas	Uso proibido: Macho de qualquer idade Fêmeas até oito meses Fêmeas gestantes
Dose única – subcutânea	Dose única- subcutânea
Há interferência nos testes sorológicos por até 18 meses pós vacinação: aglutinante	Não há interferência nos testes sorológicos: não aglutinante
Excreção intermitente pelo leite e urina por toda vida animal	Excreção ainda desconhecida
Patogênica para humanos	Patogênica para humanos

de inalação de aerossóis urinários, as respostas sorológicas à infecção pela estirpe B19, podem variar quanto a sua detecção nos testes usuais de diagnóstico; enquanto que pela estirpe RB51, os testes sorológicos continuam negativos.

Diante de rebanhos vacinados, muitos profissionais se desobrigam das medidas preventivas pessoais (EPI), não atentando para o uso também de máscara, expondo-se aos aerossóis urinários, importante fonte de infecção humana!

O período de incubação da brucelose em humanos comumente varia de cinco a 60 dias, não sendo raros os casos de meses de incubação antes dos primeiros sintomas. Em muitos pacientes cursa apenas como infecção, identificada em testes sorológicos, sem sintomas e sinais clínicos aparentes.

Nos casos agudos, septicêmicos, vários órgãos e tecidos estão comprometidos e os sintomas são variados e não concomitantes.

Fadiga, astenia, adinamia, podem estar acompanhadas de cefaleia, anorexia com perda importante de peso, desânimo, depressão do humor, alteração do sono, exacerbação da sensibilidade ao frio, sudorese intensa principalmente à noite com odor alterado, mialgia, tenidinite, uveíte, tosse, ardor ou incomodo ao urinar, dor abdominal, alteração do transito intestinal, icterícia, acompanhados de febre aguda, insidiosa, remitente ou ondulante. Lesões cutâneas como vasculite, exantema e eritema nodoso foram descritas.

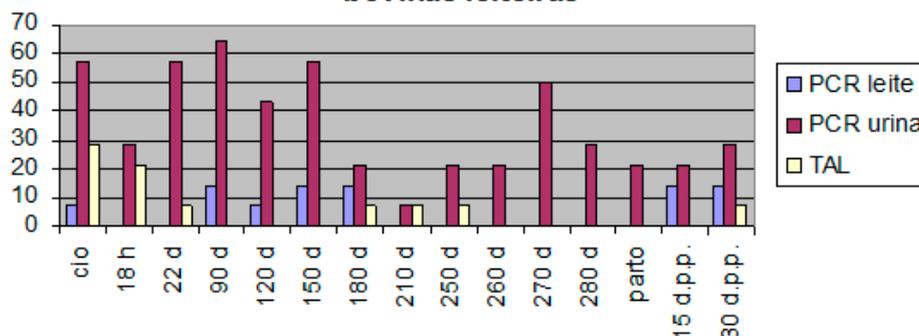
No homem, a dor testicular pode estar presente devido à orquite e à epididimite; nas mulheres, salpingite, cervicite, abscesso pélvico e abortamento são descritos. Em ambos os sexos, com o emprego da Polimerase Chain Reaction- PCR no diagnóstico, constatou-se elevadíssima frequência do comprometimento gênito-urinário. Complicações osteoarticulares podem ocorrer em 60% dos casos, comprometendo o andar pela dor intensa advinda de artrites, bursites e calcificações articulares. Espondilodiscites (40%) e demais alterações na coluna vertebral, principalmente lombar são muito frequentes e limitantes ao trabalho. Nos casos ainda mais severos, são descritas encefalite, meningite (neurobrucelose), neurites periféricas, endocardite bacteriana (2%) que podem evoluir ao óbito se não diagnosticadas precocemente. Comumente ao exame clínico são detectadas hepatomegalia, esplenomegalia e adenopatias.

Recentemente, duas condições atípicas chamaram atenção da comunidade médica:

1- Isolamento de estirpe de *Brucella* a partir de ferida infectada pós implante de mama em paciente de 71 anos com sinais clínicos de brucelose. Frente as análises fenotípicas e moleculares foi reconhecida uma nova

Figura 3: Monitoramento por meio da PCR da excreção de *Brucella abortus*, estirpe B19 pelo leite e urina de fêmeas bovinas com idades variando entre 3 e 9 anos, vacinadas contra brucelose aos 3-8 meses

PCR-leite, PCR-urina e TAL dos tres grupos fêmeas bovinas leiteiras



Fonte: Pacheco W.A., et al, Braz J Microbiol. 2012 Apr;43(2):594-601
PCR: polimerase Chain Reaction d:dias d.p.d.: dias pós parto

espécie: *Brucella inopinata* (Schotz et al., Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2010, 60 (4):801-8.)

2- Uma estirpe de *Brucella* (BO2) foi isolada a partir de biópsia de pulmão de um paciente australiano de 52 anos com pneumonia crônica, a qual com bases moleculares foi identificada como *Brucella inopinata* (Rebekah et al., <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/10/23>)

Casos de transmissão inter-humana por meio de transplante de órgãos e tecidos, sobretudo medula óssea; transfusão de sangue; aleitamento materno; transmissão intra-uterina e contato sexual foram confirmados.



Figura 4: Eritema nodoso



Figura 5: Vasculite

PREVENÇÃO DA BRUCELOSE HUMANA

- Erradicação da brucelose animal: Programas sanitários obrigatórios aos rebanhos e notificação compulsória de casos.
- Educação sanitária sobre o perigo do consumo de leite e derivados não pasteurizados, assim como sobre consumo de carne *in natura* ou mau cozida, sem conhecimento da origem ou de abate clandestino.
- Adoção de medidas preventivas com obrigatoriedade de uso de IPIs para os grupo de riscos: doença ocupacional.

O diagnóstico baseia-se principalmente na suspeição clínica de exposição de risco, seguido da confirmação laboratorial por meio de hemoculturas, culturas de medula óssea e de tecidos infectados, exames sorológicos e fundamentalmente pela PCR de urina e liquor. A cultura é sensível e específica, entretanto, necessita incubação prolongada. Aumento de quatro vezes a titulação sorológica ou uma única titulação maior ou igual a 1:60 podem ser usadas para confirmar o diagnóstico clínico. A localização intracelular da bactéria e seu pequeno tamanho dificultam a utilização de microscopia direta para fins diagnósticos. Dependendo da fase clínica da doença, o resultado sorológico pode ser falso negativo, sendo essencial o emprego de várias técnicas diagnósticas concomitantemente. O exame de PCR da urina tem se mostrado excelente nos pacientes cujos demais exames falharam em confirmar a brucelose.

O diagnóstico humano conta com o serviço do Ambulatório de Zoonoses do Instituto de Infectologia Emilio Ribas, São Paulo-SP; localizado a Av. Dr. Arnaldo no.165, tel: 38961200 (PABX), Prédio dos Ambulatórios, sob responsabilidade do Dr. Marcos Vinicius da Silva (marcos.silva@emilioribas.sp.gov.br ou mvsilva@pucsp.br, as consultas poderão ser agendadas por telefone



Figura 6: RM Coluna Torácica: D10-D11 com alterações degenerativas exuberantes, caracterizadas por hipossinal em T2, redução de sua altura e por hérnia protrusa de base estreita paramediana direita que comprime o saco dural e a face ventral da medula torácica

ou no site do Instituto de Infectologia Emílio Ribas. O diagnóstico laboratorial é realizado no Instituto Adolfo Lutz, na Av. Dr. Arnaldo, 355, São Paulo – SP, Telefone: (11) 3088-3041; Dra. Maristela Marques Salgado do Centro de Imunologia, responsável pela PCR (rede.pcr@gmail.com) e Dra. Suely Sanae Kashino também do Centro de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz, pela sorologia (skashinobr@yahoo.com).

O Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico–SAA-SP, Av. Cons.

Rodrigues Alves, 1252, Telefone (11) 5087-1770 acreditado pelo MAPA, apresenta equipe de excelência no diagnóstico animal. Dra Lilian Paulin (paulin@biologico.sp.gov.br) realiza todos os exames sorológicos, incluindo Fixação do Complemento, Teste de polarização fluorescente entre outros; Dra Eliana Scarcelli Pinheiro (pinheiro@biologico.sp.gov.br) responsável pelo isolamento e identificação bacteriana, e Dra Rosa Maria Piatti (piatti@biologico.sp.gov.br) realiza a PCR para *Brucella* spp.



Figura 7: RM de Coluna Lombo-Sacra: Abaulamento discal posterior difuso em L4-L5 e L5-S1



Figura 8: RX: Trocanter maior com calcificações compatível com bursite trocântica

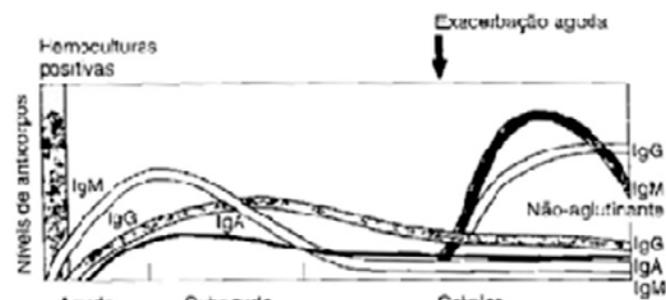
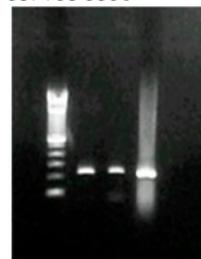


Figura 9: Titulação de anticorpos em função das fases da doença causada por brucelose (14). ALMEIDA, T.; UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR, FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, portugal, maio/2009

PROBLEMAS COM O DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE HUMANA

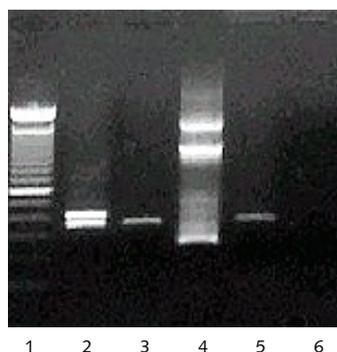
- HISTÓRICO COMPLEXO/FALHA NA SUSPEIÇÃO CLÍNICA
- DIFERENTES FATORES DE RISCO
- PERÍODO DE INCUBAÇÃO VARIÁVEL (1-3 SEMANAS A MESES)
- MÚLTIPLOS SINTOMAS

Figura 10: PCR PARA DETECÇÃO DE *BRUCELLA* SPP., PRIMER B4-B5
5' TGG CTC GGT TGC CAA TAT CAA 3'
5' GTC TGG ACT TTC CGT TCG CGC 3'



- 1 - Padrão de peso molecular-100pb
- 2 - Amostra de urina pura
- 3 - Amostra de urina diluída 1:2
- 4 - Controle positivo: *Brucella abortus* (cultura)
- 5 - Controle negativo: água

Figura 11: Hemi-nested PCR para diferenciação de DNA de *Brucella* spp de campo e cepa vacinal de *Brucella abortus* (B19) Primers gênero-específicos (240 pb) e primers que flanqueiam a região deletada do gene *ery* da B19 (361 pb.)



Fonte: Miyashiro et al, RAIB, 2010
 Padrão Molecular 100 bp
 Amostra sangue (361 pb)
 Amostra urina (361 pb)
 Controle positivo *Brucella abortus* campo (240 pb)
 Controle positivo B19 (361 pb)
 Controle negativo (água)

RECIDIVAS

São observadas recidivas geralmente nos seis primeiros meses após o tratamento em 5% a 23% dos pacientes tratados. Estão associadas à terapêutica inadequada e ao tempo insuficiente de tratamento.

O sucesso da cura está na persistência do tratamento mesmo diante da melhora clínica e aparente remissão dos sintomas que podem ocorrer nas primeiras semanas!!! Efeitos adversos da medicação como náusea, vômitos, desconforto abdominal, epigastralgia, desequilíbrio, vertigem, fotossensibilidade, nefro-toxicidade, reações de hipersensibilidade e a possível ocorrência de ototoxicidade, desestimulam a continuidade do tratamento, cujo sucesso depende diretamente da sua duração. Nos casos osteoarticulares o tempo mínimo é de 4 meses, podendo ser maior na dependência da avaliação médica.

O monitoramento pela PCR da excreção urinária de *Brucella* spp. ao longo do tratamento é uma medida auxiliar importante para avaliar o êxito do protocolo terapêutico escolhido e a duração necessária para evitar recidivas.

Quadro 2: Principais esquemas terapêuticos na brucelose humana

ESQUEMA	DROGA	DOSE	INTERVALO	DURAÇÃO
preferencial do adulto	doxicilina + rifampicina	100 -200 mg 300 mg	12/12hs	42 dias
preferencial de crianças de 8 a 14 anos	doxicilina + rifampicina	1-2 mg/Kg/dose 7,5-10 mg/Kg/dose	12/12 H	42 dias
preferencial de crianças menores de 8 anos	SMZ-TMP + rifampicina ou	4mg/Kg/dose (do TMP) + 7,5-10 mg/Kg/dose +	12/12 h	42 dias
	estreptomicina (1) ou	30/mg/Kg/dose	24h	21 dias
	gentamicina (1)	5 mg/Kg/dose	24h	10 dias
alternativo para adultos com intolerância/ alergia a rifampicina e para tratamento de profissional infectado pela vacina RB51 (3)	doxicilina +	100 mg	12/12 h	42 dias
	estreptomicina (1) ou	1g	24h	14 dias
	gentamicina (1)	160 mg	24h	14 dias
alternativo para adultos com intolerância/ alergia a doxicilina	ciprofloxacina + rifampicina	500 mg 300 mg	12/12 H	42 dias
	rifampicina + SMZ-TMP(2) ou Estearato de Eritromicina	300 mg 800+160mg 500 mg	12/12 H 12/12 H 6/6 H	42 dias

IV ou IM

Deve-se evitar o SMZ-TMP no terceiro trimestre do puerpério, pelo risco de icterícia neonatal.

No acidente com vacina RB51, a rifampicina está contra indicada

Até o momento não foi definido um tratamento seguro para gestantes

Fonte: adaptado de <http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/zoonoses/Noticias/2012/>