

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA BRUCELOSE EM
FÊMEAS BOVINAS ADULTAS NA REGIONAL RIO DAS ANTAS,
GOIÁS**

Thiago Menegazzo Montes

Orientadora: Prof. Dr. Valéria de Sá Jayme

GOIÂNIA

2017

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS
DE TESES E
DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** [] **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

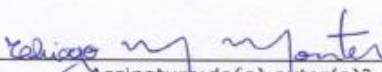
Nome completo do autor: THIAGO MENEGAZZO MONTES

Título do trabalho: "ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA BRUCELOSE EM FÊMEAS BOVINAS ADULTAS NA REGIONAL RIO DAS ANTAS, GOIÁS."

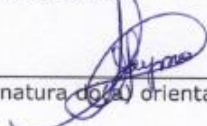
3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM [] NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:


Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 24 / 08 / 2017

¹Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:
- Solicitação de registro de patente
- Submissão de artigo em revista científica
- Publicação como capítulo de livro
- Publicação da dissertação/tese em livro

²A assinatura deve ser escaneada.

THIAGO MENEGAZZO MONTES

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA BRUCELOSE EM
FÊMEAS BOVINAS ADULTAS NA REGIONAL RIO DAS ANTAS,
GOIÁS**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal junto à Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Área de Concentração:

Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos

Linha de Pesquisa:

Etiopatogenia, epidemiologia, diagnóstico e controle das doenças infecciosas dos animais.

Orientador:

Prof. Dr. Valéria de Sá Jayme - EVZ / UFG

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Emmanuel Arnhold – EVZ/UFG

Dr. Vanessa Silvestre F. de Oliveira –LABVET/Agrodefesa

GOIÂNIA

2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Montes, Thiago Menegazzo

Estudo epidemiológico da brucelose em fêmeas bovinas adultas na Regional Rio das Antas, Goiás [manuscrito] / Thiago Menegazzo Montes. - 2017.

xvi, 54 f.

Orientador: Prof. Dr. Valéria de Sá Jayme; co-orientador Dr. Emmanuel Arnold ; co-orientador Dr. Vanessa Silvestre Ferreira de Oliveira.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2017.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, abreviaturas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Brucella abortus. 2. epidemiologia. 3. fatores associados. 4. prevalência. I. Jayme, Valéria de Sá, orient. II. Título.

CDU 639.09

1 ATA NÚMERO **480** DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO PROGRAMA DE
2 PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL DA ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
3 DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS. Às **14h00min** do dia **31/07/2017**, reuniu-se na sala
4 de defesas do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, a Comissão Julgadora infra
5 nomeada para proceder ao julgamento da Defesa de Dissertação de Mestrado apresentado (a) pelo
6 (a) Pós-Graduando (a) **Thiago Menegazzo Montes**, intitulada: "*Estudo epidemiológico da*
7 *brucelose em fêmeas bovinas adultas na Regional Rio das Antas*", apresentado para obtenção do
8 Título de Mestre em Ciência Animal, junto à Área de Concentração: **Sanidade Animal, Higiene e**
9 **Tecnologia de Alimentos**, desta Universidade. O Presidente da Comissão Julgadora, **Profa. Dra.**
10 **Valéria de Sá Jayme**, iniciando os trabalhos, concedeu a palavra ao (a) candidato (a) **Thiago**
11 **Menegazzo Montes** para exposição em **quarenta** minutos do seu trabalho. A seguir, o senhor
12 Presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos Examinadores, os quais passaram a
13 arguir o (a) candidato (a), durante o prazo máximo de **vinte** minutos, assegurando-se ao mesmo
14 igual prazo para responder aos Senhores Examinadores. Ultimada a arguição, que se desenvolveu
15 nos termos regimentais, a Comissão, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando o
16 (a) candidato (a) **Aprovado (a) ou Reprovado (a):**

17 Profa. Dra. Valéria de Sá Jayme (Orientador (a))

Aprovado

18 Dr. William Vilela Rocha

Aprovado

19 Profa. Dra. Maria Auxiliadora Andrade

Aprovado

20 Em face do resultado obtido, a Comissão Julgadora considerou o(a) candidato(a) **Thiago Menegazzo**
21 **Montes**, habilitado [(Habilitado(a) ou não Habilitado(a)] pelo(s)

22 motivo(s) abaixo exposto(s):

23 Atendimento aos critérios

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34 A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da dissertação:

35 "Estudo epidemiológico da brucelose em fêmeas bovinas
36 adultas na Regional Rio das Antas, Goiás,"

37

38

39

40

41 Nada mais havendo a tratar, eu **Profa. Dra. Valéria de Sá Jayme** lavrei a presente ata que, após
42 lida e achada conforme foi por todos assinada.

43 Profa. Dra. Valéria de Sá Jayme

44 Dr. Willian Vilela Rocha

45 Profa. Dra. Maria Auxiliadora Andrade

Dedico à minha esposa, pais e irmão pela paciência,
compreensão e principalmente incentivo.
À minha orientadora Valéria de Sá Jayme pela
oportunidade, orientação, apoio e confiança.
Aos meus colegas da AGRODEFESA e Pós-Graduação
que estiveram sempre dispostos a ajudar.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela saúde, sabedoria, direcionamento e proteção.

A minha esposa, Cintia Asmar Ganzaroli, pela paciência, amor, incentivo e acreditar sempre em mim, de tal forma a nunca me deixar desistir.

Aos meus pais Nivaldo Gonçalves Montes e Maria Heloisa Menegazzo Montes pelo imenso amor, apoio e intercessão constante em suas orações. Ao meu irmão, Rafael Menegazzo Montes pelo apoio e incentivo.

A Dr^a Valéria de Sá Jayme, pela paciência, dedicação, ensinamentos, amizade e orientação. Aos professores e coordenação do curso de Pós-Graduação da Escola de Veterinária e Zootecnia/ UFG pela oportunidade e ensinamentos.

Ao Dr. Willian Vilela Rocha que sempre me apoiou e por inúmeras vezes dispôs de seu tempo para me aconselhar e orientar. É um profissional exemplar ao qual busco sempre me espelhar.

À coordenação e aconselhamentos da Dr^a Vanessa Silvestre F. de Oliveira e professor Dr. Emmanuel Arhnold. Aos colegas Thiago Sousa Azeredo Bastos e Ernani Barbosa.

Ao Governo de Goiás e à Agência Goiana de Defesa Agropecuária, em especial à Gerência Regional Rio das Antas, Gerência de Sanidade Animal, Diretoria Técnica e Presidência.

Aos colegas Rafael Vieira, Tatiana Romanowski, Hidelbrando Amaral, Janaina Moraes e Pablo Noletto, do Laboratório de Análise e Diagnóstico Veterinário - LABVET. Aos técnicos da AGRODEFESA que auxiliaram nas atividades de campo.

Ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e FUNDEPEC pelo apoio financeiro.

Aos produtores rurais que cederam suas propriedades e rebanhos para realização deste estudo e a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Etiologia e características do agente.....	3
2.2 Patogenia e mecanismos de transmissão	4
2.3 Aspectos epidemiológicos	6
2.3.1 Situação epidemiológica nacional	6
2.3.2 Fatores de risco	11
2.3.3 Métodos de controle	12
2.4 Diagnóstico.....	15
2.4.1 Métodos de diagnóstico direto.....	16
a) Isolamento e identificação da bactéria	16
b) Imunohistoquímica.....	17
c) Reação em cadeia da polimerase (PCR).....	17
2.4.2 Métodos de diagnóstico indiretos	18
a) Antígeno acidificado tamponado (AAT).....	19
b) Teste do anel em leite (TAL)	19
c) Teste 2 Mercaptoetanol (2-ME)	20
d) Fixação de complemento.....	20
e) Outros testes	21
2.5 Aspectos econômicos e de saúde pública	22
2.5.1 Impactos econômicos	23
2.5.2 Importância como zoonose.....	23
3. OBJETIVOS.....	26
3.1 Objetivo geral	26

3.2 Objetivos específicos	26
4. MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Local de realização do estudo.....	27
4.2. Delineamento amostral	28
4.3 Atividades na propriedade	29
4.4 Testes laboratoriais	31
4.5 Cálculo das prevalências aparentes	31
4.6 Construção do banco de dados e análise estatística.....	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
6. CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS	44
ANEXOS	52

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Localização das unidades regionais de acordo com a classificação da Agência Goiana de Defesa Agropecuária.....27
- FIGURA 2 - Divisão geopolítica do Estado de Goiás e seus circuitos produtores, segundo a principal atividade de exploração do rebanho bovino: Circuito Norte e Nordeste representado principalmente por gado de corte; Circuito Sul e Sudeste por gado de leite; e Circuito Sudoeste e Centro representado por exploração mista.....28
- FIGURA 3 - Distribuição espacial das propriedades amostradas e propriedades foco de brucelose na Regional Rio das Antas/Goiás.....35

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Descrição dos resultados finais para prevalência de brucelose bovina em propriedades foco por unidade federativa brasileira.....	8
TABELA 2 -	Descrição dos resultados finais para prevalência de brucelose bovina em animais sororreagentes, por unidade federativa brasileira.....	9
TABELA 3 -	Comparação da prevalência de rebanhos infectados com brucelose bovina (P) entre o primeiro e o segundo estudo realizado em estados brasileiros, com um intervalo de aproximadamente 10 anos.....	10
TABELA 4 -	Prevalência de focos e fêmeas bovinas com idade ≥ 24 meses sororreagentes para brucelose na Regional Rio das Antas/Goiás.....	33
TABELA 5 -	Relação entre resultado do diagnóstico de brucelose e tipos de exploração do rebanho bovino.....	36
TABELA 6 -	Correlação entre variáveis: produção de queijo, ingestão de leite cru, venda de leite diretamente ao consumidor; e diagnóstico de brucelose.....	37
TABELA 7 -	Resultado da análise univariada dos possíveis fatores de risco para brucelose em fêmeas bovinas ≥ 24 meses na Regional Rio das Antas/Goiás.....	38
TABELA 8 -	Resultado da análise de regressão logística para fatores de risco (<i>Odds ratio</i>) associados a brucelose em fêmeas bovinas adultas na Regional Rio das Antas/Goiás.....	40

LISTA DE QUADROS

- QUADRO 1 - Resistência da *Brucella spp* em algumas condições ambientais.....4
- QUADRO 2 - Principais fatores de risco para brucelose bovina por unidade federativa brasileira.....12
- QUADRO 3 - Exemplos de sensibilidade e especificidade relativas, expressas em percentagem, dos testes Antígeno Acidificado Tamponado, 2-Mercaptoetanol e Fixação de Complemento, empregados para sorodiagnóstico da brucelose em bovídeos.....21
- QUADRO 4 - Exemplos de sensibilidade e especificidade relativas, expressas em percentagem, dos testes Elisa-I, Elisa-C e Polarização de Fluorescência, empregados para sorodiagnóstico da brucelose em bovídeos.....22

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAT	- Antígeno Acidificado Tamponado
AGRODEFESA	- Agência Goiana de Defesa Agropecuária
FC	- Fixação de Complemento
FPA	- Teste de Polarização de Fluorescência
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IgG	- Imunoglobulina G
IgM	- Imunoglobulina M
IN	- Instrução Normativa
LABVET	- Laboratório de Diagnóstico Veterinário
LPS	- Lipopolissacarídeo
MAPA	- Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
OIE	- Organização Mundial de Saúde Animal
PCR	- Reação em Cadeia da Polimerase
pH	- Potencial Hidrogênionico
PNCEBT	- Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose
qPCR	- Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real
SDA	- Secretaria de Defesa Agropecuária
TAL	- Teste do Anel em Leite
2-ME	- 2-Mercaptoetanol
rpm	- Rotações por minuto

RESUMO

A brucelose é uma enfermidade infecto-contagiosa e zoonótica, causada por bactérias do gênero *Brucella*. Trata-se de uma doença endêmica no Brasil, com prevalência variável e que acomete principalmente o trato reprodutivo dos animais, resultando em diversos prejuízos no campo, indústria e saúde pública. Esta pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de determinar a prevalência da brucelose em fêmeas bovinas adultas na Regional Rio das Antas / Goiás, sua distribuição espacial e os fatores associados a esta enfermidade. Foram amostradas 95 propriedades rurais sorteadas aleatoriamente para colheita de amostras de sangue em fêmeas bovinas com idade acima de 24 meses, gerando um total de 992 amostras. Os soros colhidos foram submetidos ao teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e para os casos positivos, ao 2-Mercaptoetanol (2-ME), realizados em série. Foi aplicado um questionário epidemiológico para avaliação dos fatores de risco para brucelose em cada propriedade. Foi verificada uma prevalência aparente de 13,68% [7,49 – 22,26] para propriedades e 2,11% [1,32 – 3,22] para animais. O modelo logístico múltiplo para os fatores de risco da brucelose em fêmeas bovinas, detectou efeito significativo somente para a variável vacina B19 (OR = 2,85; IC [1,05 – 7,04]). Por tais resultados, pode-se afirmar que a brucelose bovina em rebanhos e animais é considerada alta na região avaliada, com ampla distribuição espacial, dispersa em todo o território estudado e em todos os sistemas de produção. Dentre os fatores associados ao risco de brucelose em fêmeas bovinas adultas, a vacinação mostra-se associada.

Palavras-chave: *Brucella abortus*, epidemiologia, fatores associados, prevalência

ABSTRACT

Brucellosis is an infectious-contagious and zoonotic disease caused by bacteria of the genus *Brucella*. It is an endemic disease in Brazil, with a variable prevalence and it mainly affects the reproductive tract of the animals, resulting in several damages in the countryside, industry and public health. This research aimed to determine the prevalence of brucellosis in adult cows in the Rio das Antas Regional (Goiás), its spatial distribution and the factors associated with this disease. A total of 95 farms were randomly selected for blood sampling in cows over 24 months of age, totalizing 992 samples. These samples were submitted to the Buffered, Acidified Plate Antigen test, and for those positive cases, to the 2-Mercaptoethanol test. An epidemiological survey was applied to evaluate the risk factors for brucellosis in each farm. There was an apparent prevalence of 13.68% [7.49 - 22.26] for farms and 2.11% [1.32 - 3.22] for animals. In bovine females, the multiple logistic model for brucellosis risk factors detected a significant effect for the B19 vaccine variable (OR = 2.85; IC [1.05 – 7.04]). For these results, it can be stated that bovine brucellosis in herds and animals is considered high in the evaluated region, with a wide spatial distribution, dispersed throughout the studied territory and in all production systems. Among the factors associated with the risk of brucellosis in adult bovine females, vaccination is associated.

Keywords: *Brucella abortus*, epidemiology, associated factors, prevalence

1. INTRODUÇÃO

A bovinocultura brasileira tem importante participação na economia do Brasil, composta por um rebanho efetivo de 217,50 milhões de cabeças, conforme dados do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA)¹. Em termos de comercialização, as exportações de carne bovina atingiram o patamar de 1,4 milhões de toneladas em 2016, tendo a pecuária goiana se destacado no cenário econômico nacional com contribuição significativa para este índice².

O Estado de Goiás, localizado na região Centro-Oeste, com uma área de 340.086 km², detém um rebanho efetivo de 22.868.131 bovinos³ e encerrou o quarto trimestre de 2016 na quinta posição no *ranking* nacional de abate de bovinos e produção de leite⁴. Neste cenário, a brucelose bovina, pode se tornar um obstáculo para o desenvolvimento da cadeia produtiva bovina.

À medida que o Estado busca cada vez mais aumentar seus índices de produtividade, torna-se necessário melhorar a qualidade de seus produtos, principalmente na área sanitária. Para tanto, é necessário o estabelecimento de programas voltados à sanidade animal, que promovam medidas de controle e erradicação de doenças, projetando positivamente a imagem do Estado frente ao mercado nacional e internacional.

O comércio internacional de animais, produtos e subprodutos é regido por normas estabelecidas pela Organização Mundial da Saúde Animal – OIE, que estão descritas no Código Sanitário dos Animais Terrestres. Seu principal objetivo é tornar este comércio seguro, reduzindo os riscos de propagação de diversas doenças entre países importadores e exportadores⁵. Estas normas estabelecem recomendações de prevenção e controle de diversas doenças, dentre elas, a brucelose. Sua importância socioeconômica e de saúde pública, faz com que seja listada como doença de notificação obrigatória⁶.

A brucelose é uma enfermidade infecto-contagiosa crônica e zoonótica, causada por bactérias intracelulares facultativas do gênero *Brucella*, responsáveis por ocasionar diversos problemas sanitários e prejuízos econômicos podendo acometer animais domésticos, silvestres e o homem^{7,8}.

Considerada como uma importante zoonose, essa doença resulta em elevados custos que abrangem desde a implantação dos programas de erradicação, saneamento de propriedades foco, perdas associadas à condenação de carcaças de animais com a infecção e, na área de saúde pública, aos fatores de hospitalização e absenteísmo ao trabalho⁹.

Em termos econômicos, as perdas podem variar entre 10 a 15 % na produção de carne e 10 a 24 % na produção de leite, além de abortos, aumento no intervalo entre partos de 11,5 para 20 meses, bem como redução de 15 % na taxa de nascimento e sobrevivência de bezerros^{7,10-12}.

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), visando o controle da brucelose bovina, instituiu em 2001, o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT)⁷, que consiste em um conjunto de medidas sanitárias tendo como um dos objetivos principais, a redução na prevalência e incidência dos casos de brucelose e tuberculose.

Estudos epidemiológicos realizados no Brasil entre 2001 e 2016 revelaram a situação epidemiológica da brucelose em 18 unidades federativas (UFs), permitindo concluir que a doença apresenta prevalência variável entre estados e mesmo entre regiões de um mesmo estado^{13,14}. As UFs estudadas detêm aproximadamente 85% do rebanho bovino nacional¹⁴.

Com intuito de adequar a legislação de controle e erradicação da brucelose e tuberculose aos padrões internacionais e dar maior fluidez à execução do programa sanitário, foi publicado em junho deste ano, a Instrução Normativa SDA nº 10, de 03 de março de 2017, cuja estratégia de atuação é baseada na classificação das Unidades da Federação quanto ao grau de risco para brucelose e para a tuberculose, de forma distinta.

Para classificação do Estado de Goiás quanto ao grau de risco para brucelose, se faz necessária a atualização de seus índices de prevalência¹⁵. Este trabalho representou portanto, parte de um projeto que abrange todo o Estado de Goiás, com objetivo de determinar estes índices, bem como e fatores de risco associados a brucelose bovina em fêmeas adultas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Etiologia e características do agente

As bactérias do gênero *Brucella* são cocobacilos Gram-negativos, intracelulares facultativos, não formadoras de esporos, imóveis e que se coram pelo método de Zhiel-Neelsen^{7,16-18}. Podem apresentar-se em meios de cultura no cultivo primário, com morfologia colonial do tipo lisa ou rugosa. Essa morfologia está associada a constituição química da parede celular, com a presença ou ausência da Cadeia O – um dos componentes do lipopolissacarídeo (LPS) localizado na superfície externa da *Brucella*, que está relacionado a virulência de algumas espécies^{17,19}.

Brucella spp não são espécie específicas, mas têm predileção pelo hospedeiro. Atualmente, são relatadas na literatura, mais de 10 espécies, cada uma com hospedeiro preferencial. Dessas espécies, seis são denominadas “clássicas”: *B. abortus* (isolada em bovinos e bubalinos), *B. melitensis* (ovinos e caprinos), *B. suis* (suínos), *B. ovis* (ovinos), *B. canis* (cães) e *B. neotomae* (rato do deserto). Outras seis espécies foram identificadas nas últimas décadas, sendo elas: *B. microti* (roedores), *B. inopinata* (isolado de infecção em prótese mamária de humanos), *B. pinnipedialis* e *B. ceti* (mamíferos marinhos), *B. papionis* (babuíno natimorto) e *B. vulpis* (raposas)²⁰.

B. melitensis, *B. abortus*, *B. suis* e *B. neotomae* normalmente apresentam colônias do tipo lisa e possuem na constituição do LPS, a cadeia O. Quando sofrem mutações para formas rugosas ou mucoides, deixam de ser patogênicas. Já *B. canis* e *B. ovis* apresentam morfologia predominantemente do tipo rugosa^{7,17,21}.

A espécie mais infectante e patogênica ao ser humano é a *B. melitensis*, seguida da *B. suis*, *B. abortus* e *B. canis*, porém *B. abortus* é a responsável pela maioria das infecções devido a sua maior difusão nos plantéis animais¹².

A constante capacidade de adaptação da gênero *Brucella*, sua característica de não ser espécie específica, o aparecimento de novos reservatórios, a proximidade dos animais de vida livre com rebanhos domésticos, as práticas de manejo inadequado em propriedades que tenham diferentes espécies animais convivendo no mesmo espaço, fazem com que fontes de infecção se perpetuem, potencializando infecções cruzadas entre diferentes espécies animais^{9,18}.

As bactérias do gênero *Brucella* possuem ampla capacidade de sobrevivência no meio ambiente, quando em condições de sombreamento, alta umidade, baixas temperaturas, pH neutro e presença de matéria orgânica, porém não são capazes de se multiplicar nele^{7,21}.

No quadro 1 está demonstrado o tempo de resistência da bactéria em determinadas condições ambientais.

QUADRO 1 – Resistência da *Brucella spp* em algumas condições ambientais

Condição Ambiental		Tempo de Sobrevivência
Luz solar direta		4 – 5 horas
Instalações		4 meses
Pastagem		1 – 6 dias
Solo	Seco	4 dias
	Úmido	65 dias
	Baixas temperaturas	151 – 185 dias
Fezes		120 dias
Dejetos	Esgoto	8 – 240 / 700 dias
	Altas temperaturas	4 horas – 2 dias
Água	Potável	5 – 114 dias
	Poluída	30 – 150 dias
Leite	15 °C	38 dias
	72 °C	15 segundos
Feto à sombra		180 dias
Exsudato uterino		200 dias

Fonte: Adaptado de Brasil (2006)⁷

Todas as espécies do gênero são sensíveis ao calor, à acidez e à ação de desinfetantes, como álcool 70%, produtos clorados (2,5% de cloro ativo) e compostos fenólicos a 2,5%²¹, que devem ser utilizados na desinfecção de instalações, utensílios e ambiente^{13,21}.

A viabilidade da bactéria em produtos de origem animal como leite e carne depende de temperatura e pH. Temperaturas abaixo de 5°C inibem o seu crescimento, porém podem permanecer viáveis mesmo em temperatura de congelamento. No entanto, temperatura de 72°C é capaz de destruir o agente em 15 segundos. Além da temperatura, situações de pH inferior a 4 são capazes de eliminar a bactéria²².

2.2 Patogenia e mecanismos de transmissão

A principal fonte de infecção da *B. abortus* é representada pela vaca prenhe, que elimina grandes quantidade de bactérias por ocasião do aborto ou parto, contaminando pastagens, água, alimentos e fômites. Estes animais são capazes de continuar eliminando o patógeno em secreções uterinas por aproximadamente 30 dias. Hábitos de lamber e cheirar

animais recém nascidos ou fetos abortados, principalmente por outras vacas, favorecem a transmissão da brucelose^{13,23}.

A infecção natural se inicia pela penetração da bactéria no organismo, através do contato direto com mucosas oral, nasofaríngea, conjuntival ou por solução de continuidade na pele, sendo que a porta de entrada principal da *B. abortus* em bovinos é a mucosa orofaríngea^{12,21}.

Após a penetração, as bactérias são fagocitadas principalmente por macrófagos e transportadas até os linfonodos regionais, onde se multiplicam, podendo ocasionar hiperplasia e linfadenite. A partir dos linfonodos regionais, migram para outros linfonodos (principalmente o supramamário) e tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, tais como baço e fígado. Tecidos osteoarticulares, mamários e órgãos reprodutores são locais preferencialmente habitados pela bactéria, em função da maior disponibilidade de eritritol, um poli álcool composto por quatro carbonos utilizado como fonte de energia pelas brucelas¹².

Nos bovinos, a concentração do eritritol altera conforme o período gestacional, atingindo elevados níveis próximo ao parto. A multiplicação da brucela no útero desencadeia uma reação necrótico-inflamatória nos placentomas e conseqüentemente o descolamento do cotilédone e da carúncula, gerando prejuízo na circulação materno-fetal, impossibilitando a passagem de nutrientes e oxigênio da mãe para o feto. Este processo resulta em danos que variam do aborto ao nascimento de bezerros subdesenvolvidos^{12,21}.

Geralmente na primeira gestação após a infecção, o animal aborta; entretanto em gestações subsequentes pode ou não ocorrer o aborto, sendo comum o nascimento de bezerros fracos, retenção de placenta, além de casos de metrite ou endometrite crônica, capazes de gerar subfertilidade, infertilidade ou esterilidade. Isso ocorre devido ao desenvolvimento da imunidade celular, que diminui a intensidade e quantidade de lesões nos placentomas¹³. Vale ressaltar que estas fêmeas tornam-se portadoras crônicas, eliminando a bactéria no leite, urina e anexos fetais durante os partos subsequentes²⁴.

Após a expulsão do feto, quando o útero entra em repouso, a bactéria migra para outros tecidos como a glândula mamária e linfonodos supramamários, podendo ocasionar mastite. A eliminação do agente pelo leite é intermitente e persiste por meses¹².

A participação dos touros na transmissão da brucelose via monta natural é pequena, uma vez que embora a bactéria esteja presente no sêmen, a vagina apresenta barreiras inespecíficas que dificultam a infecção. Cuidados especiais devem ser tomados com a inseminação artificial, visto que o sêmen contaminado com *B. abortus* é altamente

infeccioso quando depositado diretamente no útero, onde não existe estas barreiras inespecíficas¹³.

A transmissão congênita pode ocorrer. Neste caso, as bactérias que infectam o feto durante a gestação migram para tecidos dos pulmões e linfonodos regionais, podendo desencadear a condição de “portador latente”, condição em que estes animais se apresentam sorologicamente negativos ou com títulos instáveis e soroconvertem na metade da primeira gestação. Acredita-se que tal fenômeno ocorra em uma frequência de 1 a 9% em condições naturais a campo^{12,17}.

No aspecto de saúde pública, o contágio ocorre principalmente pela ingestão da bactéria em alimentos, geralmente o leite cru e seus derivados não pasteurizados, além de carnes cruas, mal assadas ou cozidas, oriundas de animais infectados^{7,13}. Os casos de transmissão de brucelose via ingestão de carne ou seus derivados são raros, visto que o número de bactérias no tecido muscular é baixo e raramente a carne é consumida crua²².

2.3 Aspectos epidemiológicos

Programas de controle e erradicação de uma doença baseiam-se em aumentar a resistência da população a determinada enfermidade e na interrupção da cadeia de transmissão do agente etiológico¹³.

O conhecimento da real situação epidemiológica da brucelose bovina é extremamente importante para programas de controle e erradicação da doença. Primeiro, porque permite elaborar as melhores estratégias a serem utilizadas no programa, dependendo da frequência e padrão de distribuição da doença na subpopulação estudada e segundo porque conhecimento desta situação permite acompanhar o andamento do programa e julgar se há necessidade de promover correções²⁵.

2.3.1 Situação epidemiológica nacional

O primeiro diagnóstico clínico da brucelose bovina no Brasil foi realizado em 1914, por Danton Seixas, no estado do Rio Grande do Sul. Em 1922, Tinécio Icibaci realizou o primeiro estudo sobre brucelose bovina, a partir de pesquisas epidemiológicas e exames microscópicos em tecidos provenientes de fetos abortados no município de São Carlos, interior de São Paulo²⁶.

Durante a década de 1940 e 1950, ocorreram as primeiras tentativas de controle da doença no Brasil, com a realização da vacinação de bezerras e exames sorológicos²⁷. Em 1975, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, realizou o primeiro

estudo sorológico nacional de brucelose, baseado em dados de notificações oficiais. A frequência de animais soropositivos foi de 4,0%, 7,5%, 6,8%, 2,5% e 4,1% respectivamente para as regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e Norte. Os índices serviram de base para a aprovação da Portaria nº23 no ano de 1976, pelo Ministério da Agricultura, que tratou das normas de Profilaxia da Brucelose⁷.

Posteriormente, outros estudos sorológicos foram realizados. Em Minas Gerais houve um decréscimo de 7,6% em 1975 para 6,7% em 1980. No Rio Grande do Sul, a prevalência de 2% obtida em 1975, reduziu para 0,3% em 1986 após uma efetiva campanha de vacinação no Estado. Em Santa Catarina, a prevalência que era de 0,2% em 1975 aumentou para 0,6% em 1996. No Paraná a prevalência de 9,6% estimada em 1975 diminuiu para 4,6% em 1989. A consolidação de diversos dados de notificações oficiais indicaram uma variação entre 4 a 5% para animais soropositivos no período de 1988 a 1998⁷.

Em 2001, verificando a ineficácia das medidas regulamentadas pela Portaria Ministerial 23/76, instituiu-se o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal – PNCEBT, tendo como um dos objetivos principais, reduzir a prevalência e incidência dos casos de brucelose e tuberculose bovina e bubalina no Brasil. O PNCEBT introduziu a vacinação obrigatória de fêmeas entre três e oito meses de idade contra brucelose bovina e bubalina em todo o território nacional com amostra da vacina B19 e definiu estratégias para controle de trânsito e certificação de propriedades livres ou monitoradas para brucelose⁷.

Inquéritos soroepidemiológicos realizados durante o período de 2001 a 2004 em 15 unidades federativas, mostraram que a doença está disseminada em todas as áreas estudadas com índices de prevalência variando de 0,32% a 41,5% para propriedades foco conforme Tabela 01, cujos dados expressos foram coletados a partir de diversos estudos que encontram-se referenciados na mesma.

TABELA 01 – Descrição dos resultados finais para prevalência de brucelose bovina em propriedades foco por unidade federativa brasileira

UF	Número de propriedades testadas	Número de focos de brucelose	Prevalência (%)	IC 95% (%)	Referência
BA	1.413	57	4,20	[3,10 – 5,30]	Alves et al, 2009
DF	278	7	2,52	[1,02 – 5,12]	Gonçalves et al, 2009
ES	622	55	9,0	[6,97 – 11,55]	Azevedo et al, 2009
GO	895	145	17,54	[14,91 – 20,17]	Rocha et al, 2009
MG	2.204	145	6,04	[4,98 – 7,10]	Gonçalves et al, 2009
MS	1.004	426	41,5	[36,5 – 44,7]	Chate et al, 2009
MT	1.152	-	41,2	[38,0 – 44,4]	Negreiros et al, 2009
PR	2.094	99	4,02	[3,23 – 4,80]	Dias et al, 2009
RJ	945	155	15,42	[12,91 – 17,91]	Klein et al, 2009
RO	921	324	35,18	[32,09 – 38,36]	Villar et al, 2009
RS	1.957	63	2,06	[1,50 – 2,63]	Marvulo et al, 2009
SC	1.586	1	0,32	[0,10 – 0,69]	Sikusawa et al, 2009
SE	588	70	12,6	[9,19 – 6,01]	Silva et al, 2009
SP	1.073	105	9,7	[7,80 – 11,6]	Dias et al, 2009
TO	1.842	377	21,22	[19,33 – 23,11]	Ogata et al, 2009

A análise dos fatores de risco dos estudos realizados nas 15 unidades federativas revelou um risco maior de se ter a doença em propriedades com tipo de criação extensiva, com grande número de fêmeas, em rebanhos majoritariamente de corte e que compram animais com finalidade de reprodução²⁸.

O quantitativo de animais amostrados e a prevalência de animais sororreagentes para brucelose bovina, nas diversas unidades federativas do Brasil durante o período de 2001 a 2004, encontram-se descritos na Tabela 02 cujos dados expressos foram coletados a partir de diversos estudos, conforme registrado na mesma. Os índices de prevalência variaram entre 0,06 e 10,2%.

TABELA 02 – Descrição dos resultados finais para prevalência de brucelose bovina em animais sororreagentes, por unidade federativa brasileira

UF	Número de animais testadas	Número de animais positivos	Prevalência (%)	IC 95% (%)	Referência
BA	10.803	81	0,66	[0,41 – 0,93]	Alves et al, 2009
DF	2.019	7	0,16	[0,04 – 0,28]	Gonçalves et al, 2009
ES	5.351	88	3,53	[1,93 – 6,37]	Azevedo et al, 2009
GO	10.738	240	3,01	[2,69 – 3,33]	Rocha et al, 2009
MG	20.643	226	1,09	[0,78 – 1,41]	Gonçalves et al, 2009
MS	9.466	-	8,55	-	Chate et al, 2009
MT	13.684	-	10,2	-	Negreiros et al, 2009
PR	14.850	153	1,73	[1,10 – 2,36]	Dias et al, 2009
RJ	8.239	248	4,08	[2,83 – 5,33]	Klein et al, 2009
RO	9.703	560	6,22	[4,88 – 7,56]	Villar et al, 2009
RS	16.072	111	1,02	[0,60 – 1,43]	Marvulo et al, 2009
SC	7.801	2	0,06	[0,00 – 0,17]	Sikusawa et al, 2009
SE	4.640	134	3,36	[2,28 – 4,44]	Silva et al, 2009
SP	8.761	187	3,81	[0,72 – 6,90]	Dias et al, 2009
TO	20.908	688	4,43	[3,57 – 5,29]	Ogata et al, 2009

Aproximadamente 10 anos após a realização desses estudos, um segundo estudo epidemiológico da brucelose bovina foi realizado nos estados de Rondônia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo e Rio Grande do Sul, visando avaliar a diminuição ou não da prevalência após a implantação do programa de vacinação obrigatória para brucelose. Os resultados podem ser observados na Tabela 03.

TABELA 03 - Comparação da prevalência de rebanhos infectados com brucelose bovina (P) entre o primeiro e o segundo estudo realizado em estados brasileiros, com um intervalo de aproximadamente 10 anos

Estado	Primeiro estudo			Segundo estudo		
	Ano	P (%)	IC 95% (%)	Ano	P (%)	IC 95% (%)
Minas Gerais	2002	6,04	[4,98-7,10]	2011	3,59	[2,76-4,42]
Rondônia	2004	35,18	[32,09-38,36]	2014	12,3	[10,3-14,6]
Mato Grosso	2003	41,2	[38,0-44,4]	2014	24,0	[21,3-26,8]
Mato Grosso do Sul	1998	41,5	[36,5-44,7]	2009	30,6	[27,4-34,0]
Espírito Santo	2002/2003	9,0	[6,97-11,55]	2012/2014	9,3	[7,1-11,8]
Rio Grande do Sul	2004	2,06	[1,5-2,63]	2013	3,54	[2,49-4,88]
São Paulo	2001	9,7	[7,8-11,6]	2011	10,2	[8,8-11,8]
Santa Catarina	2001	0,32	[0,1-0,69]	2012	0,91	[0,3-2,11]

Fonte: Adaptado de Ferreira Neto et al. (2016)¹⁴

No segundo estudo verificou-se queda significativa nos índices de prevalência para a brucelose bovina em Minas Gerais, Rondônia, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul devido a investimentos realizados em programas de vacinação compulsória²⁹⁻³². Nos estados do Espírito Santo, Rio Grande do Sul e São Paulo verificou-se índices próximos aos obtidos na década anterior. Em Santa Catarina, constatou-se um discreto aumento devido à baixa prevalência da doença desde 2001. Vale ressaltar que este é o único estado em estágio avançado do PNCEBT, atuando já na fase de erradicação, com intensificação do sistema de vigilância para detecção e saneamento de propriedades foco e proibição desde 2004, da vacinação de bezerras utilizando vacina B19³³.

Em outros dois estados foram realizados seus primeiros estudos epidemiológicos a nível global para avaliação da situação da brucelose em seus rebanhos. No Pará, detectou-se prevalência aparente de 10,25%³⁴ e na Paraíba, 0,36%³⁵ para animais soropositivos. É importante ressaltar que no Pará foi desenvolvido um estudo retrospectivo em 2011, a partir de resultados de exames realizados por laboratórios particulares em diferentes regiões do estado. Já na Paraíba, foi feito um levantamento de dados, a partir dos relatórios mensais

destinados ao serviço oficial do estado, emitidos por médicos veterinários habilitados para realização do diagnóstico da brucelose bovina durante o período de janeiro de 2008 a julho de 2009. Vale ressaltar que as pesquisas acima tem metodologia distinta das apresentadas anteriormente.

2.3.2 Fatores de risco

Os fatores de risco referem-se a aspectos de hábitos ou de exposição ambiental que estão associados ao aumento da probabilidade de ocorrência de uma determinada doença. Uma vez que estes fatores de risco podem ser modificados, medidas que os atenuem podem diminuir a ocorrência da doença³⁶.

Estudos epidemiológicos com análise de fatores de risco são feitos baseados na associação da presença ou ausência da infecção no rebanho, com variáveis incluídas em um questionário epidemiológico aplicado ao produtor durante visita na propriedade para colheita de amostras²⁸. O questionário epidemiológico visa obter informações sobre o tipo de exploração e as práticas de manejo empregadas na propriedade rural, permitindo assim identificar os possíveis fatores de risco associados a presença da doença no rebanho³⁷.

Variáveis como densidade populacional, tamanho do rebanho, raça de animais (aptidão para leite ou corte) e tipo de sistema de criação, também se fazem importantes em estudos epidemiológicos³⁸.

São diversas as variáveis analisadas em inquéritos soropidemiológicos de brucelose bovina. As principais variáveis utilizadas são: tipo de exploração (ou sistema de produção: carne, leite e misto), tipo de criação (confinado, semi-confinado ou extensivo) uso de inseminação artificial, raças predominantes, número de vacas com idade superior a 24 meses, número de bovinos na propriedade, presença de outras espécies domésticas, presença de animais silvestres, destino da placenta e dos fetos abortados, compra e venda de animais, vacinação contra brucelose, abate de animais na propriedade, aluguel de pastos, pastos comuns com outras propriedades, pastos alagados, piquete de parição e assistência veterinária^{37,39-52}.

Em estudo realizado por Mota²⁸, foram avaliadas as principais variáveis associadas à condição de foco para brucelose bovina por unidade federativa brasileira, conforme descrito no Quadro 2. Segundo a pesquisadora, o tamanho de rebanho e compra de reprodutores foram apontados como os principais fatores de risco relacionados à ocorrência de brucelose, sendo a compra de reprodutores o principal fator de introdução da doença.

QUADRO 2 – Principais fatores de risco para brucelose bovina por unidade federativa brasileira

Variável	Descrição dos efeitos	UF
1.Tipo de exploração	- Exploração de corte como fator de risco - Exploração mista como fator de risco - Exploração de leite como fator de risco	MT, RO, RS MT TO
2.Tipo de criação	- Confinamentos e semi-confinamento como fator de risco	ES
3.Uso de inseminação artificial	- Utilização como fator de risco	ES, MS
4.Compra de reprodutores	- Aumenta o risco de associação à condição de foco	BA, GO, MG, PR, RJ, SP
5.Tamanho do rebanho	-Rebanhos maiores como fator de risco	MS, MT, RJ, SE, SP, TO
6. Vacinação com B-19	- Utilização da vacina como fator protetor - Utilização da vacina como fator de risco	BA, ES, MG, TO GO
7. Presença de animais silvestres	- Presença de cervídeos como fator de risco	MG
8. Presença de áreas alagadiças	- Fator de risco	BA
9.Abate de animais na propriedade	- Fator de risco	TO
10. Presença de sinais clínicos	- Ocorrência de abortos nos últimos 12 meses como fator de risco - Ocorrência de bezerros fracos como fator de risco	GO, MS, MT, RO, RS MS
11. Aluguel de pastos	- Fator de risco	PR, RJ
12. Uso de piquetes de parição	- Fator protetor	TO
13. Assistência veterinária	- Fator de risco	SE

Fonte: Mota ALAA, 2011²⁸

2.3.3 Métodos de controle

As estratégias de controle da brucelose bovina visam à redução constante do número de focos da doença e se estruturam basicamente em ações de vacinação obrigatória de

fêmeas bovinas entre três e oito meses de idade, controle de trânsito dos animais, diagnóstico com sacrifício dos animais positivos, certificação de propriedades livres e implantação de sistemas de vigilância específicos^{7,15,53}.

A vacinação constitui-se uma medida preventiva e é empregada com intuito de reduzir a prevalência da doença^{7,54}. As vacinas empregadas no Brasil, recomendadas pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), são a B19 e a vacina não indutora de anticorpos aglutinantes (amostra RB51). As vacinas B19 são elaboradas com amostras vivas atenuadas da *B. abortus* bv.1 estirpe B19, que apresentam imunidade mais duradoura, sendo portanto mais efetivas quando comparadas a outras vacinas, provenientes de amostras mortas^{7,55,56}.

A vacinação com B19 é de caráter compulsório, com exceção dos estados classificados como A, conforme estabelecido no Capítulo XVII da Instrução Normativa SDA nº 10/2017. É realizada em bezerras com idade entre três e oito meses e apresenta uma série de benefícios tais como: baixo custo de produção, permite uma única vacinação, previne o aborto, é estável e não se multiplica na presença de eritritol, além de conferir proteção contra infecção ao redor de 70% a 80%. Entretanto, se utilizada em fêmeas adultas pode desencadear o aborto e interferir no diagnóstico da doença, gerando resultados falso positivos aos testes sorológicos, além de causar orquites em machos e ser possível a infecção ao ser humano durante seu manuseio^{7,13,15,55}.

A idade vacinal quando se utiliza a vacina B19 deve ser rigorosamente seguida, pois uma vez realizada fora do período correspondente a idade de três a oito meses, há grande probabilidade de produção de anticorpos persistentes que podem interferir no diagnóstico da doença após os 24 meses de idade. Quando a vacinação ocorre até os oito meses, tal situação não ocorre^{7,13}.

Após a vacinação com B19, é obrigatória a imediata marcação das fêmeas vacinadas, utilizando ferro candente ou nitrogênio líquido, no lado esquerdo da cara, com o algarismo final do ano de vacinação; além da comprovação de vacinação das bezerras na unidade local do serviço de defesa oficial, no mínimo uma vez por semestre¹⁵.

Diante da necessidade de obter uma vacina que não induzisse a formação de anticorpos persistentes, foi desenvolvida na década de 90 a RB51, elaborada com amostra lisa da *B. abortus*, cepa 2308, que após passagens sucessivas em meios de cultura com concentrações subinibitórias de rifampicina, originou a amostra rugosa⁷.

Em estudo realizado por Poester⁵⁴, constatou-se que novilhas adultas vacinadas com RB51 e posterior desafio experimental com amostras virulentas de *B. abortus* durante o

6º - 7º mês de gestação, não apresentaram positivas nos testes preconizados no PNCEBT para diagnóstico de brucelose, em exames realizados quinzenalmente no período de um ano pós vacinação.

A vacina RB51 possui características de proteção semelhantes às da B19, porém por ser uma amostra rugosa, os anticorpos produzidos não interferem no diagnóstico da enfermidade. Deve ser utilizada como ferramenta estratégica na vacinação de bezerras com idade superior a oito meses e que não foram vacinadas com a amostra B19 entre três e oito meses; em fêmeas adultas não reagentes aos testes de diagnóstico em estabelecimentos de criação com focos de brucelose ou em regiões onde as características geográficas restrinjam o manejo das explorações pecuárias a período limitado do ano^{7,15}. Fêmeas vacinadas com amostra RB51 devem ser marcadas com um “V” no lado esquerdo da cara¹⁵.

A emissão de Guia de Trânsito Animal – GTA de bovinos e bubalinos, qualquer que seja a finalidade, fica condicionada à comprovação de vacinação obrigatória contra brucelose no estabelecimento de criação de origem dos animais. No caso do trânsito de fêmeas em idade de vacinação contra brucelose, as mesmas deverão estar imunizadas. Animais destinados a reprodução ou participação em aglomerações de animais, deverão apresentar exames com resultado negativo, à exceção daqueles com origem em estabelecimentos livre de brucelose¹⁵.

Outra forma de controle da brucelose bovina é o sacrifício obrigatório dos animais positivos aos testes confirmatórios, com o encaminhamento preferencialmente para o abate sanitário em estabelecimentos com serviço de inspeção de carcaças, ou como alternativa, a destruição do animal na própria unidade de criação, observados alguns critérios: acompanhamento pelo serviço oficial de defesa sanitária, sacrifício feito por método que assegure morte rápida e sem espalhamento de sangue, sendo a carcaça enterrada a dois metros de profundidade, longe de poços e cursos de água, nascentes e bebedouros, para se evitar contaminação⁷.

Associadas as estratégias de vacinação, identificação e sacrifício de animais positivos, outra medida que deve ser tomada é a correta desinfecção de áreas e objetos contaminados, bem como o destino adequado de fetos e materiais de aborto, reduzindo a carga infectante para os animais susceptíveis. Os principais desinfetantes utilizados são: hidróxido de cálcio 15%, cresóis 5%, fenol 1%, hipoclorito de cálcio e de sódio a 2,5% e soda cáustica a 2 e 3%⁷.

Medidas simples, como manejo eficiente de pastagens e piquetes, podem permitir com que fatores naturais como boa insolação, baixa umidade e altas temperaturas sejam

capazes de reduzir a sobrevivência da bactéria ao meio ambiente. Pastagens utilizadas por animais infectados devem permanecer vedadas por pelo menos dois meses e no caso de áreas contaminadas diretamente com materiais provenientes de abortos recomenda-se a aplicação de pó de cal (hidróxido de cálcio) e posterior revolvimento da terra para compactação do solo⁷.

Esses mecanismos de controle da doença quando associados, permitem reduzir a prevalência e a incidência da enfermidade, evitam a disseminação da *Brucella* no rebanho e possibilitam a criação de propriedades livres para brucelose, permitindo ao produtor utilizar esta certificação como instrumento para agregar valor aos seus produtos de origem animal⁷.

A certificação de propriedades livres é de adesão voluntária e a obtenção do certificado está condicionada a vacinação de todas as fêmeas com idade entre três e oito meses e realização de dois testes de rebanhos consecutivos com resultado negativo, em um intervalo de seis a doze meses¹⁵.

A conscientização de produtores, tratadores, vaqueiros e técnicos é fundamental para o sucesso do PNCEBT, uma vez que estão diretamente envolvidas com o manejo dos animais e o efetivo empenho de cada um influencia diretamente no controle da doença¹³.

2.4 Diagnóstico

As observações clínicas e epidemiológicas proporcionam indícios de determinadas doenças no rebanho, porém para se ter a confirmação é necessário o emprego de métodos laboratoriais¹³.

Os procedimentos de diagnóstico estão diretamente associados à eficácia dos programas de controle de diversas doenças⁷. Sabendo-se que a legislação sanitária (IN DAS nº 10/2017) preconiza o abate sanitário ou eutanásia dos animais reagentes, o correto diagnóstico se torna extremamente importante, a fim de se evitar a eliminação de animais sadios ou manutenção de animais fontes de infecção, devido ao diagnóstico inadequado¹⁵.

Como a brucelose é uma doença cujo o quadro clínico não é patognomônico, somente determinadas técnicas laboratoriais permitem o diagnóstico conclusivo, que pode ser feito pela identificação do agente por métodos diretos, ou pela detecção de anticorpos contra *brucella* por métodos indiretos⁷.

Na estrutura de programas sanitários, utiliza-se de métodos indiretos para identificação de animais positivos e encaminhamento para abate sanitário, durante o qual pode-se colher amostras para o diagnóstico direto⁵⁵.

2.4.1 Métodos de diagnóstico direto

Os métodos de diagnóstico direto consistem no isolamento e identificação do agente, imunohistoquímica e detecção de ácidos nucleicos pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)^{7,21}. São métodos confiáveis que exigem uma maior habilidade quanto a colheita, conservação das amostras e execução das técnicas.

São geralmente utilizados após a manifestação dos sinais clínicos da doença, momento em que o agente etiológico já se encontra disseminado no rebanho. Portanto, são recomendados para confirmação de focos e caracterização do agente circulante⁵⁷. São testes trabalhosos, de custo alto e inviáveis quando se trabalha com rebanhos^{12,57}.

Classicamente, o diagnóstico direto é realizado em materiais oriundos de aborto, ou de secreções como leite, sêmen e líquido sinovial de articulações comprometidas. Em casos de aborto, os materiais de eleição são os anexos placentários, além do conteúdo estomacal, baço, fígado, pulmão e rins dos fetos. Podem ser coletadas também, amostras obtidas de animais submetidos ao abate sanitário. Na cadeia linfática, os linfonodos supramamários são os principais locais para isolamento da bactéria em animais infectados. Outros linfonodos como retrofaríngeos, mandibulares, parotídeos, pré-escapulares e ilíacos devem também ser colhidos no momento do abate^{21,57}.

a) Isolamento e identificação da bactéria

O isolamento e identificação da *B. abortus* é o método mais preciso para diagnóstico, porém exige procedimentos que são lentos, onerosos e de alto risco de contaminação humana, devido à manipulação de tecidos de fetos abortados, placentas, exsudatos vaginais, sêmen e leite, provenientes de animais infectados com a bactéria, sendo poucos os laboratórios que realizam este procedimento^{7,13}.

Para realização desta técnica é necessário um tempo de incubação, que varia de três a 21 dias, além de um corpo técnico com treinamento específico no manejo de agentes patogênicos e laboratórios com instalações e equipamentos de proteção nível três de biossegurança.^{13,21}

É um teste considerado padrão ouro, que apresenta alta especificidade e que permite identificar diferentes espécies e biovariedades do agente, importante em estudos epidemiológicos. No entanto, a sensibilidade da técnica depende da viabilidade e da quantidade de *Brucella* spp. na amostra, bem como da natureza da amostra clínica.⁵⁸

O emprego de meios de cultura seletivos é extremamente importante, uma vez que a maioria dos materiais remetidos aos laboratórios está potencialmente contaminado com

outros microrganismos, sendo necessária a inibição da microbiota secundária sem afetar o desenvolvimento da *Brucella*. É importante ressaltar que materiais não oriundos de abortos podem significar resultados falso negativos devido à baixa carga infectante. Para o enriquecimento seletivo no isolamento primário de *B. abortus*, aconselha-se a adição de caldo triptose com meio Farrel para melhorar a sensibilidade da técnica. Este meio contém vários antimicrobianos que minimizam a contaminação bacteriana secundária⁵⁸.

b) Imunohistoquímica

A imunohistoquímica permite não somente a identificação do agente, como possibilita também a visualização dos aspectos microscópicos do tecido amostrado⁷. Pode ser procedida em material de aborto após a fixação em formol⁷ e destaca-se pela praticidade, tendo a vantagem de não necessitar que a bactéria esteja viável no tecido^{21,59}.

Situações em que o feto pode apresentar avançado estado de autólise, dificultando o isolamento e identificação do agente, a imunohistoquímica se apresenta como um método viável e importante para o diagnóstico⁶⁰.

Segundo Orlando et al.⁶¹ a imunohistoquímica é uma ferramenta útil e viável para diagnóstico de lesões em casos de aborto bovino bacteriano, principalmente quando não há acesso a exames bacteriológicos ou as amostras encontram-se muito contaminadas ou formalizadas.

c) Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A técnica de PCR é capaz de detectar um segmento específico do DNA da *Brucella* spp em amostras provenientes de material abortivo, secreções, excreções e produtos de origem animal⁷, permitindo a identificação e diferenciação entre espécies e biovars⁶²,

É considerado um importante método de diagnóstico pela alta sensibilidade e especificidade, rápida obtenção de resultados, além de detectar pequenas quantidades de microrganismos em diferentes substratos sem a necessidade de estarem viáveis, o que é importante em relação a patogenia para humanos^{21,57,62}. As principais desvantagens estão relacionadas ao alto custo de equipamentos e reagentes, além de requerer um corpo técnico treinado⁷.

A qPCR é uma tecnologia aprimorada da PCR convencional. Esta técnica é importante para o diagnóstico de patógenos, doenças genéticas e análise de polimorfismo, apresentando a vantagem de obter resultados mais rápidos quando comparada à PCR convencional, além de não necessitar de eletroforese para visualização das ampliações²¹.

2.4.2 Métodos de diagnóstico indiretos

Os métodos de diagnóstico indireto, também conhecidos como sorológicos, visam detectar a presença de anticorpos contra *Brucella* spp em fluidos corporais (soro sanguíneo, leite, muco vaginal e sêmen), constituindo um importante recurso para controle e erradicação da doença em rebanhos bovinos⁷. São os mais indicados quando se trabalha com rebanhos, por serem rápidos, de fácil execução, de baixo custo e permitem o monitoramento tanto de propriedades quanto de regiões^{55,57}.

Reações falso positivas podem ocorrer por dois fatores: primeiro, pela presença de anticorpos não específicos presentes em infecções causadas por outras bactérias como *Yersinia enterocolitica* O:9, *Salmonella* sp, *Escherichia coli* O:157, ou *Pseudomonas* sp; segundo, devido a vacinação de fêmeas com amostra B19 após idade recomendada (três a oito meses)⁷.

Reações falso negativas podem ocorrer em três situações: fenômeno pró-zona, onde há inibição da aglutinação devido a altas concentrações de anticorpos, como por exemplo em bovinos com infecção crônica; infecção recente, embora se saiba que com 30 dias aproximadamente de infecção, os animais apresentam níveis detectáveis de Imunoglobulina M (IgM) e Imunoglobulina G (IgG); e durante período pré e pós-parto, devido à mobilização de grande quantidade de anticorpos para o colostro e líquidos fetais⁶³.

Conforme a IN SDA nº 10/2017, fêmeas submetidas a testes sorológicos de diagnóstico no intervalo de 15 dias antes até 15 dias depois do parto ou aborto, cujos resultados sejam negativos, deverão ser retestadas entre 30 a 60 dias após o parto ou aborto¹⁵. Por isso não se recomenda a realização de testes sorológicos de diagnóstico no período periparto.

Bezerras infectadas *in útero* podem permanecer com a infecção latente ou com títulos sorológicos instáveis durante seu desenvolvimento até o primeiro parto. Infecções latentes nos animais sorologicamente negativos podem servir como futuras fontes de infecção e, nestes casos, a vacinação é ineficaz^{12,55}

No Brasil, são definidos como oficiais pelo PNCEBT os testes: Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) como teste de rotina, o Teste do Anel em Leite (TAL) como sendo para monitoramento de propriedades leiteiras e 2- Mercaptoetanol (2-ME), Fixação de Complemento (FC) e Teste de Polarização Fluorescente (FPA) como testes confirmatórios¹⁵. Para diagnósticos conclusivos, geralmente é utilizada uma combinação em série de testes de triagem com testes confirmatórios, objetivando dar uma maior confiabilidade ao diagnóstico.

a) Antígeno acidificado tamponado (AAT)

Este teste é utilizado para triagem em rebanhos bovinos. Trata-se de um método de diagnóstico qualitativo, ou seja, não indica o título de anticorpos no soro, apenas a presença ou ausência de IgG1. Consiste em um processo de soroaglutinação em placa, no qual o antígeno é tamponado em pH baixo. Esta acidificação ocasiona redução da atividade de IgM, tornando a prova seletiva para identificação de IgG1⁶⁴.

A presença de qualquer aglutinação classifica o animal como reagente ao teste. Estes animais deverão, em até 30 dias, ser submetidos ao teste confirmatório ou destinados ao abate sanitário/ eutanásia¹⁵.

É um teste de execução simples, rápida e de baixo custo, com ótima sensibilidade e boa especificidade^{7,12}. Tem como desvantagem a possibilidade de apresentar resultado falso-positivo em animais vacinados em idade superior à indicada pela vacina B19. É preparado com antígeno na concentração de 8%, tamponado em ácido (3,65) e corado com Rosa de Bengala⁷.

b) Teste do anel em leite (TAL)

O teste do Anel em Leite, também conhecido como *Ring Test* (RT), é aplicado em mistura de leites provenientes de vários animais. Trata-se de um importante método de diagnóstico utilizado na vigilância epidemiológica, devido à capacidade de identificar rebanhos infectados com a brucelose e monitorar a condição sanitária de propriedades leiteiras livres da doença⁷. É um teste de diagnóstico presuntivo destinado a identificar rebanhos infectados em áreas de controle da brucelose⁶⁵.

É de fácil execução, prático e de sensibilidade adequada. Quando diagnosticada uma amostra positiva, deve ser realizada uma investigação individual dos animais, correspondentes ao rebanho no qual foi coletado a amostra de leite⁶⁵. Procede-se então com o exame Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) na triagem dos animais e para os casos positivos, utiliza-se o confirmatório com o 2 Mercaptoetanol (2-ME)⁷.

Apresenta como desvantagens a necessidade de os animais estarem em lactação e a possibilidade de resultados falso-positivo nos seguintes casos: leite provenientes de animais vacinados em idade superior a preconizada para a vacina B19; vacas em início de lactação (devido a presença do colostro); ou com mastite, situação esta em que o leite terá células e bactérias não habituais, dificultando a leitura da prova^{7,65}.

A correta colheita da amostra influencia diretamente no resultado. As amostras para realização do teste devem ser colhidas de misturas de leite homogeneizado. Utiliza-se

como conservante o formol a 1% ou cloreto de mercúrio a 2% na proporção de 1mL de conservante para cada 10 mL de leite⁷.

c) Teste 2 Mercaptoetanol (2-ME)

O teste 2 Mercaptoetanol, é um método de diagnóstico indireto mais específico, utilizado como teste confirmatório para animais positivos ao teste de triagem (AAT). Trata-se de uma prova quantitativa seletiva, de alta especificidade e que detecta somente a presença de imunoglobulinas da classe IgG (indicativa de infecção crônica) no soro sanguíneo. Deve ser realizado sempre em conjunto com a prova de soroaglutinação lenta em tubos (SAT)⁷.

Soros tratados com 2-ME não apresentam aglutinação da IgM, devido à ação de compostos tiol que reduz as pontes dissulfídricas da sua configuração pentamérica e degrada a imunoglobulina em cinco subunidades não capazes de formar complexos suficientemente grandes para provocar aglutinação^{7,12,55}. O tratamento com Mercaptoetanol pode provocar aumento na sensibilidade pelas IgG, que não sofrem alteração⁶⁴.

Animais reagentes inconclusivos poderão ser retestados em um intervalo de 30 a 60 dias, usando o 2-ME; ou em até 30 dias usando a fixação de complemento ou teste de polarização fluorescente. Caso apresentem resultado positivo ou novo inconclusivo, deverão ser destinados ao abate sanitário/ eutanásia¹⁵.

Como desvantagem pode-se citar o tempo para realização do teste (média de 48 horas), devido ao período de incubação necessário para leitura, quantidade de vidraria utilizada por amostra, além do potencial risco decorrente da manipulação de um reagente tóxico^{12,66}.

A detecção exclusiva de IgG é favorável, pois a maioria das reações cruzadas resultantes da exposição a outros agentes infecciosos, se deve principalmente a anticorpos da classe IgM, responsáveis por grande parte dos resultados falso-positivos⁶⁶.

d) Fixação de complemento

É um teste de referência, recomendado pela Organização Mundial de Saúde animal (OIE) para o trânsito internacional de animais^{5,7}. É um teste confirmatório, utilizado para animais reagentes ao teste do AAT ou que se apresentarem inconclusivos ao teste do 2-ME ou inconclusivo no Teste de Polarização Fluorescente (FPA)¹⁵.

Detecta anticorpos IgG₁ no soro, tanto em casos de infecção precoce quanto em casos crônicos. Outra vantagem está relacionada a baixa interferência de anticorpos vacinais

quando comparada a testes de aglutinação, permitindo a diferenciação de animais infectados dos vacinados¹².

A desvantagem dessa técnica está relacionada à sua complexidade para execução, bem como à necessidade de laboratórios bem equipados, com corpo técnico altamente capacitado, além de um rigoroso controle de reagentes^{7,12}.

Ressalta-se que tendo como base os testes de diagnósticos descritos, o desempenho de um teste pode ser avaliado por características intrínsecas, como sensibilidade e especificidade. Sensibilidade é a probabilidade de um animal infectado ser classificado como positivo pelo teste de diagnóstico. Especificidade é a probabilidade de um animal não infectado ter resultado negativo no teste de diagnóstico⁷. Diversos trabalhos são apresentados com diferentes valores de sensibilidade e especificidade para alguns testes de diagnóstico que foram descritos, conforme apresentado no Quadro 3.

QUADRO 3 – Exemplos de sensibilidade e especificidade relativas, expressas em percentagem, dos testes Antígeno Acidificado Tamponado, 2-Mercaptoetanol e Fixação de Complemento, empregados para sorodiagnóstico da brucelose em bovídeos

Teste	Sr	Er	Autor
AAT	99,6	83,1	Davies et al., 1971
	96,1	97,8	Samartino et al., 1999
	91,4	94	Molnar et al., 2002
	84,3	81,4	Paulin et al., 2005
ME	-	97	Nicoletti; Muraschi, 1966
	96,8	95,6	Paulin et al., 2002
	98,1	100	Paulin et al., 2004
FC	97,5	99,9	Nielsen et al., 1995
	95,2	98,9	Uzal et al., 1995
	93,3	95,5	Nielsen et al., 1999

Legenda: Sr – Sensibilidade relativa. Er- Especificidade relativa. AAT- Antígeno Acidificado Tamponado. Me- 2-Mercaptoetanol. FC – Fixação de Complemento.

Fonte: Adaptado de Paulin e Ferreira Neto, 2008.

e) Outros testes

Existem outros testes que também podem ser utilizados para o diagnóstico de brucelose: o teste de ELISA Indireto (I-ELISA), que possui alta sensibilidade, entretanto sua especificidade assemelha-se à do Antígeno Acidificado Tamponado; o teste de ELISA Competitivo (C-ELISA), recomendado pela OIE para o diagnóstico confirmatório, de alta

sensibilidade e especificidade, porém de custo elevado^{7,12}. O C-ELISA tem a capacidade de diferenciar animais vacinados dos naturalmente infectados⁶⁷.

O teste de Polarização de Fluorescência (FPA) é um teste de rápida execução (em média dois minutos), realizável em amostras de leite ou soro, utilizando equipamento com características portáteis, permitindo ser realizado em laboratórios simples, porém de elevado investimento inicial para aquisição^{7,12}.

Estudos diversos foram realizados com avaliação da sensibilidade e especificidade desses testes, com valores registrados no Quadro 4.

QUADRO 4 – Exemplos de sensibilidade e especificidade relativas, expressas em percentagem, dos testes Elisa-I, Elisa-C e Polarização de Fluorescência, empregados para sorodiagnóstico da brucelose em bovídeos

Teste	Sr	Er	Autor
ELISA – I	98,2	98,6	Samartino et al., 1999
	93,7	98,2	Paulin et al., 2004
	96,2	99,7	Nielsen et al., 2005
ELISA – C	97,5	99,8	Samartino et al., 1999
	100	98,6	Mathias et al., 1998
	100	99,3	Molnar et al., 2002
FPA	93,5	97,2	Nielsen et al., 1999
	98,1	99,6	Samartino et al., 1999
	96,9	99	Dajer et al., 1999
	92	98,4	Paulin et al., 2005

Legenda: Sr – Sensibilidade relativa. Er- Especificidade relativa. ELISA-I – Elisa Indireto. ELISA-C – Elisa Competitivo. FPA – Polarização de Fluorescência.

Fonte: Adaptado de Paulin, Ferreira Neto, 2008.

2.5 Aspectos econômicos e de saúde pública

Conhecimentos das áreas de epidemiologia e economia estão sendo associados e aplicados em saúde animal, visando o entendimento das relações causais das doenças, de modo a permitir a mensuração das perdas econômicas e otimizar medidas de controle das doenças responsáveis pelas perdas produtivas¹⁰.

A brucelose bovina é responsável por diversas perdas econômicas, diretas e indiretas. As perdas diretas estão relacionadas principalmente a abortos, baixos índices reprodutivos, aumento do intervalo entre partos, diminuição de leite, morte de bezerras, interrupção de linhagens genéticas, além da depreciação zootécnica dos animais de propriedades positivas. Dentro das perdas indiretas, destacam-se às relacionadas a infecção humana. Além dos gastos relacionados ao tratamento da doença (medicação e internação),

têm-se também os custos decorrente da ausência no trabalho⁷. Ressalta-se que dependendo da manifestação do quadro clínico, o tratamento pode ser bastante prolongado⁶⁸.

2.5.1 Impactos econômicos

A estimativa precisa dos prejuízos causados por uma doença transmissível é uma questão difícil, pois o cálculo das perdas econômicas dependem de uma série de fatores, tais como: imunidade dos animais, estágio de gestação das fêmeas em idade reprodutiva, taxa de infecção e patogenicidade do agente¹⁰.

Estudos para avaliação de impactos econômicos normalmente são feitos levando em consideração as estimativas de gastos que o produtor rural teria devido a perdas diretas da doença com abortos, infertilidade, redução na produção de carne e leite, reposição de rebanho, entre outros¹⁸.

Lucas¹⁰, em estudo realizado no período de 2001 a 2002 para avaliação do impacto econômico da brucelose em rebanhos produtores de leite de 27 propriedades localizadas na região Sul de Goiás e 43 propriedades na região centro-oeste de Minas Gerais, estimou prejuízos causados pela doença, à época do estudo, em valores acima de 18 mil reais propriedade/ano, o que correspondeu a aproximadamente 39 mil litros de leite perdidos anualmente por propriedade.

Homem⁶⁹ relata que foram calculadas perdas anuais no município de Pirassununga, interior de São Paulo no ano 2003, valores acima de 132 mil reais para brucelose, considerando a prevalência de animais positivos em 1,1% [0 – 2,1%].

Em outro estudo realizado em 2011 por Santos et al⁷⁰, estimou um prejuízo anual aproximado de 59 milhões de reais para o Estado de Goiás em decorrência da brucelose bovina.

2.5.2 Importância como zoonose

A brucelose, também conhecida como “febre ondulante”, “febre do Mediterrâneo” ou “febre de Malta”, é uma importante zoonose de distribuição mundial. Sua transmissão ocorre geralmente pelo contato do agente com mucosas ou soluções de continuidade da pele e é em geral, potencializada para as pessoas em decorrência da não observação das normas adequadas de manejo sanitário das criações, bem como das práticas insalubres daqueles que lidam diretamente com gado bovino. Em um contexto clínico epidemiológico, o principal fator de risco da brucelose humana é a ocorrência primária da doença nos animais, especialmente na espécie bovina^{7,12,68,71}.

Pode ser considerada uma doença de caráter ocupacional devido ao maior risco de veterinários, laboratoristas, trabalhadores de matadouros-frigoríficos e de entrepostos de leite estarem expostos ao agente. A transmissão ao ser humano em grupos ocupacionais ocorre pela inalação de aerossóis contaminados ou contato direto do agente com mucosas ou soluções de continuidade da pele, quando em manipulação de: tecidos, sangue, urina, secreções vaginais, fetos abortados ou envoltórios fetais provenientes de animais infectados. O manuseio das vacinas B19 e RB51, utilizada amplamente no programa de controle e erradicação da brucelose, devem obedecer normas de segurança, pois tratam-se de cepas vivas e infectantes para o ser humano^{7,13,21,72}.

São raros os casos de transmissão entre seres humanos, todavia, já foram relatados na literatura possíveis casos de transmissão sexual, intrauterina, aleitamento materno, transfusão de sangue, transplante de medula óssea e inalação de aerossóis⁷³.

A incidência humana varia de acordo com a densidade populacional dos rebanhos locais, grau de endemia animal, nível socioeconômico e hábitos alimentares da população⁶⁸. Acomete mais o sexo masculino e é rara na infância, possivelmente devido a menor exposição deste grupo etário ao risco de infecção pelas vias cutânea e respiratórias²².

Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS), acredita-se que a verdadeira incidência da doença pode ser cinco ou mais vezes superior aos números oficiais, uma vez que é subdiagnosticada e subnotificada. Corroborando tal afirmação, de acordo com a Interface do Banco de Dados de Informações sobre Saúde Animal da OIE (WAHID/OIE), foram relatados em 2015, 149 casos de brucelose humana no Brasil, sem ocorrência de óbitos⁷⁴.

Em consulta à Superintendência de Vigilância em Saúde – SUVISA/Goiás, junto à Coordenação Estadual de Zoonoses, foram registrados em Goiás, entre 2015 e 2016, três casos de brucelose em humanos, um no município de Buriti Alegre, um em Mineiros e um em Indiará. No ano de 2017, até o mês junho, não houve registro da doença. Estes dados estão registrados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAM NET⁷⁵.

A prevenção da brucelose em humanos está relacionada sobretudo ao controle e erradicação da doença em animais²². Torna-se também importante, a utilização de equipamentos de proteção individual (EPIs) nas diferentes atividades profissionais e educação em saúde, sobre o perigo do consumo de leite e derivados não pasteurizados, assim como sobre o consumo de carne *in natura* ou mal cozida, sem conhecimento da origem ou de abate clandestino^{68,76}.

Considerando-se a importância da brucelose em saúde animal e humana, seus impactos sanitários, econômicos e sociais; justificou-se a condução do presente estudo para identificação dos índices de prevalência da brucelose em propriedades e animais, bem como sua distribuição espacial e possíveis fatores de risco associados a infecção em determinadas regiões do estado de Goiás.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o perfil epidemiológico da brucelose em fêmeas bovinas adultas, em propriedades rurais dos municípios que compõem a Regional Rio das Antas/Goiás.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar a prevalência e a distribuição espacial da brucelose em fêmeas bovinas adultas, em propriedades rurais dos municípios que compõem a Regional Rio das Antas/ Goiás;
- Identificar os fatores associados à infecção.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local de realização do estudo

Este estudo se insere em um projeto conjunto da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ/UFG) e Agência Goiana de Defesa Agropecuária (AGRODEFESA). O presente projeto foi apresentado à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Goiás e aprovado sob Protocolo nº 001/2016.

Foram realizadas visitas técnicas em 95 propriedades rurais, abrangendo áreas parciais de quatro microrregiões do Estado, que integram segundo classificação da AGRODEFESA, a Regional Rio das Antas, sendo elas: Anápolis, Goiânia, Entorno de Brasília e Pires do Rio. Sua localização, conformação, limites e inserção no mapa de Goiás, podem ser observados na Figura 1.

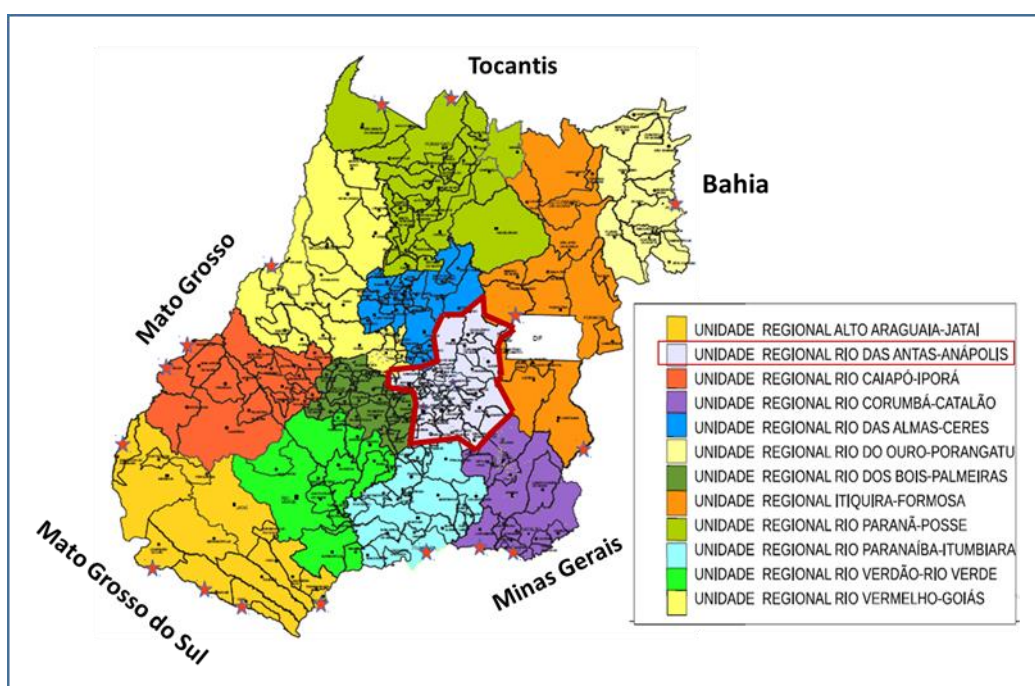


FIGURA 1 – Localização das unidades regionais de acordo com a classificação da Agência Goiana de Defesa Agropecuária.
Fonte: AGRODEFESA, 2015.

A Regional Rio das Antas é composta predominantemente por rebanhos de aptidão leiteira e mista (corte e leite), conforme destacado na Figura 2.

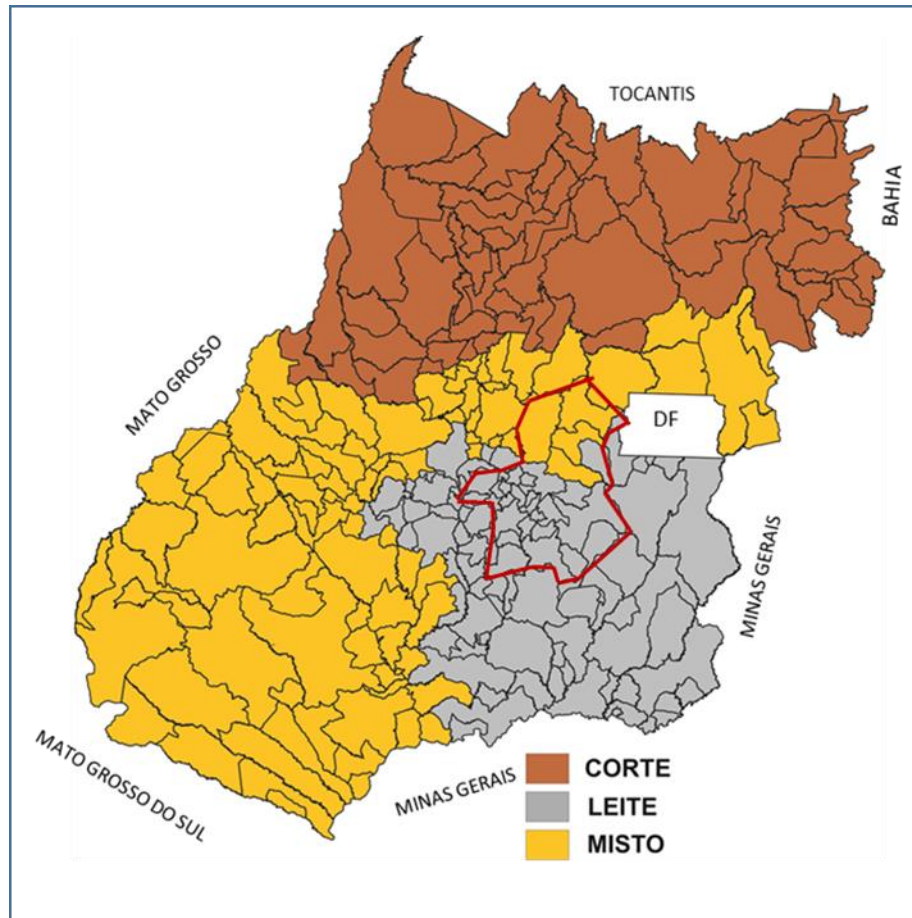


FIGURA 2 – Divisão geopolítica do Estado de Goiás e seus circuitos produtores, segundo a principal atividade de exploração do rebanho bovino: Circuito Norte e Nordeste representado principalmente por gado de corte; Circuito Sul e Sudeste por gado de leite; e Circuito Sudoeste e Centro representado por exploração mista.
Fonte: Rocha WV, 2009⁸.

Está composta por 33 municípios e consta conforme Sistema de Defesa Agropecuária de Goiás – SIDAGO/AGRODEFESA, com 13.700 propriedades rurais cadastradas. Possui um rebanho bovino efetivo de aproximadamente 1,5 milhões de cabeças, das quais 730 mil são fêmeas em idade adulta.

4.2. Delineamento amostral

No delineamento e parametrização da amostra, a propriedade rural foi considerada como a unidade epidemiológica primária, ou seja, agrupamento dos animais em um rebanho sob os mesmos tipos de controle e manejo (condição de risco igual). Dentro das propriedades rurais, foram sorteadas as unidades amostrais secundárias, representadas por fêmeas bovinas adultas, alvo do estudo.

Para cálculo amostral das unidades primárias (propriedades), assumiu-se uma prevalência de 8% para propriedades, um nível de significância de 95%, um erro máximo aceitável de 6% e um universo amostral de 13.700 propriedades rurais com fêmeas em atividade reprodutiva, conforme cadastro da AGRODEFESA. Obteve-se, com o uso do *software* EpiTools⁷⁷, um universo de 79 propriedades. Visando aumentar a precisão da estimativa e ter uma maior confiabilidade, optou-se por utilizar uma amostragem acrescida de 20%, totalizando 95 propriedades.

O banco de dados foi formado pelos 33 municípios que compõem a Unidade Regional Rio das Antas, ordenados alfabeticamente. Dentro de cada município foram listados todos os produtores locais, também em ordem alfabética. Procedeu-se então uma amostragem aleatória sistemática, de forma que os municípios com maior número de propriedades rurais apresentassem proporcionalmente um peso maior, sendo contemplados com maior número de propriedades sorteadas.

Para sorteio das fazendas, dividiu-se o número de propriedades rurais na Regional Rio das Antas que possuíam fêmeas adultas, pela quantidade a amostrar (n=95), obtendo-se o quociente pertinente. Após este procedimento, elegeu-se um número aleatório entre “um” e o quociente obtido. Posteriormente, somou-se o valor do quociente para determinar as propriedades rurais seriam amostradas.

Os proprietários sorteados foram consultados quanto à sua participação neste estudo. Em caso de recusa ou outro fator impeditivo, foi promovida a substituição da propriedade por outra próxima a ela, com características semelhantes.

4.3 Atividades na propriedade

As ações de campo foram desenvolvidas no período de outubro/2016 a março/2017, por 36 médicos veterinários da AGRODEFESA, devidamente capacitados em curso técnico específico para o estudo, com orientações sobre seleção das unidade primária e secundária, procedimentos de colheita e preparo de amostras, uso de *Global Positioning System* (GPS) e aplicação do questionário epidemiológico aos produtores rurais.

As atividades de campo constaram do detalhamento ao proprietário sobre como o trabalho seria executado, assinatura do termo de compromisso (Anexo I) permitindo e auxiliando as atividades na propriedade, registro da coordenada geográfica da propriedade, aplicação do questionário epidemiológico (Anexo II) e colheita do material para exame laboratorial.

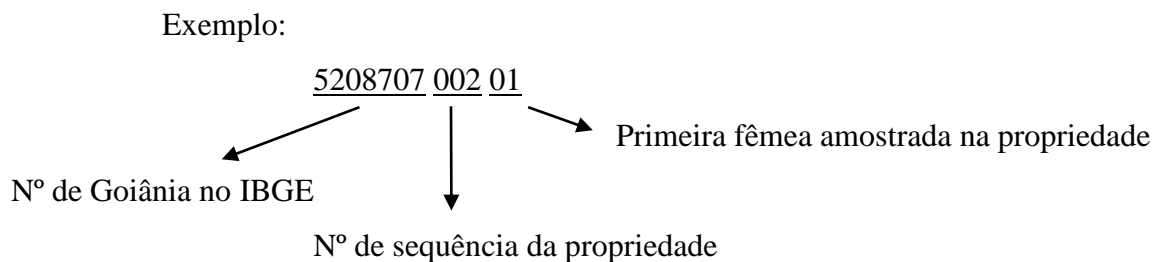
Em cada propriedade rural amostrada foi aplicado um questionário epidemiológico (composto por 38 variáveis), respondido logo após o procedimento de colheita do material, preferencialmente pelo proprietário. Na sua falta, era aplicado preferencialmente ao funcionário da propriedade que lidava diretamente com os animais. A elaboração e aplicação do questionário tiveram como objetivo a obtenção do maior número de informações, referentes aos aspectos epidemiológicos, que possibilitaram as análises dos fatores associados à doença.

O número mínimo de animais amostrados dentro de cada propriedade, de forma a permitir a sua classificação como foco ou não foco de brucelose, foi preconizado conforme o Manual de Procedimentos⁷⁸ para o estudo soropidemiológico da brucelose, elaborado pelo MAPA. Foram amostrados 10 animais para propriedades com até 99 fêmeas com idade superior a 24 meses ou todas aquelas fêmeas existentes nesta faixa etária, caso não totalizassem os 10 animais, e 15 animais para aquelas propriedades que tivessem 100 ou mais fêmeas com idade superior a 24 meses. A escolha das fêmeas dentro das propriedades foi realizada pelo sorteio aleatório simples, quando o quantitativo de animais existentes fosse menor que o dobro da amostragem. Caso o número fosse igual ou maior que o dobro, utilizava-se o sorteio por amostragem sistemática.

Foram excluídas da amostragem, fêmeas que estavam no período de peri-parto, ou seja, aproximadamente 15 dias antes ou 15 dias após o parto.

O sangue foi obtido por punção da veia coccígea ou veia jugular, com agulhas individuais e descartáveis, depositado em tubos a vácuo sem anticoagulante. A amostra de sangue necessitava cobrir no mínimo 50% da capacidade de um tubo de 10 mL. Após a colheita, o material foi centrifugado a 4.000 rpm por cinco minutos, na propriedade rural, e acondicionado em tubos *ependorf*, previamente rotulados. O material foi armazenado em caixas isotérmicas com gelo e posteriormente enviadas ao Laboratório de Análise e Diagnóstico Veterinário (LABVET/AGRODEFESA).

As identificações das amostras foram feitas por meio de uma etiqueta contendo uma sequência de 12 dígitos, sendo os sete primeiros, referentes ao código do município junto ao IBGE. Os três números subsequentes correspondiam ao número de sequência da propriedade sorteada no município; e os dois últimos foram referentes à ordem de colheita dos animais na propriedade, sendo importante salientar que não ocorreu a identificação dos animais.



Os soros sanguíneos considerados inadequados à realização dos testes foram descartados e procedeu-se nova colheita do material. Os soros encaminhados ao LABVET/AGRODEFESA foram avaliados visualmente quanto ao aspecto, conferidos e criopreservados em temperatura de -10 a -30°C, para que se pudesse realizar posteriormente seu processamento.

4.4 Testes laboratoriais

Para diagnóstico da brucelose bovina, os soros foram submetidos a um protocolo de testes realizados em série, conforme preconizado pelo PNCEBT^{7,15,78}. Como teste de triagem, foi utilizado a técnica do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT). Os soros que reagiram positivamente a este primeiro teste, foram direcionados para o teste confirmatório, com a técnica do 2-Mercaptoetanol (2-ME). A propriedade foi considerada foco de brucelose quando pelo menos um animal reagiu positivamente aos dois testes de diagnóstico.

Para classificação dos animais em reagentes ao teste ou não reagentes, foram utilizados os critérios contidos no Regulamento Técnico do PNCEBT¹⁵. Todos os exames foram realizados no LABVET/AGRODEFESA.

4.5 Cálculo das prevalências aparentes

Para a interpretação dos cálculos das medidas de frequência, detecção da doença e fatores associados, foram utilizados os conceitos epidemiológicos postulados por NOORDHUIZEN⁷⁹ e PFEIFFER⁸⁰.

Registra-se que a prevalência aparente (Pa) corresponde a proporção de animais ou rebanhos com resultado positivo ao teste e foi calculada, conforme fórmula a seguir:

$$Pa \text{ rebanhos} = \frac{\text{nº de rebanhos positivos ao teste}}{\text{Nº de rebanhos testados}}$$

$$Pa \text{ animais} = \frac{\text{nº de animais positivos ao teste}}{\text{Nº de animais testados}}$$

4.6 Construção do banco de dados e análise estatística

As informações obtidas foram inseridas em um banco de dados *on line*, disponibilizado pelo Laboratório de Epidemiologia da Universidade de São Paulo, disponível em <https://vps.fmvz.usp.br/brucela/>.

Posteriormente foi utilizado o *Software* Excel v. 2013 para tabulação de dados. Os fatores associados à infecção, foram obtidos a partir do questionário epidemiológico aplicado em cada propriedade rural amostrada, conforme Anexo 1 deste projeto.

Para comparação entre variáveis obtidas no questionário epidemiológico com a variável animal positivo ou negativo ao Teste 2-ME, foi utilizado o Teste Qui-quadrado χ^2 para independência (ao nível de 5% de probabilidade). Caso o teste apresentasse um valor inferior a 0,20; a variável seria selecionada para análise de regressão logística múltipla e *odds ratio* (razão de chances). As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do *software* R Core Team⁸¹, v. 2017.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foram analisadas amostras colhidas de 992 animais provenientes de 95 propriedades rurais. Desses, 21 animais foram diagnosticados como positivos para brucelose, estando distribuídos em 13 propriedades. As prevalências de fêmeas bovinas adultas soropositivas e propriedades foco para brucelose na Regional Rio das Antas/ Goiás, podem ser observados na Tabela 04.

TABELA 04 – Prevalência de focos e fêmeas bovinas com idade ≥ 24 meses sororreagentes para brucelose na Regional Rio das Antas/Goiás

Regional Rio das Antas	Positivo/Testados	Pa*	IC (95%)**
Propriedades foco de brucelose	13/95	16,68	[7,49 – 22,26]
Fêmeas bovinas com idade ≥ 24 meses	21/992	2,11	[1,32 – 3,22]

*Pa: prevalência aparente, expressa em %.

**IC: intervalo de confiança da prevalência aparente, expresso em %.

Para diagnóstico conclusivo da brucelose bovina, os soros foram submetidos a um protocolo de testes realizados em série. Utilizou-se a prova do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) como teste de triagem, por ser um teste mais sensível e verificou-se que 33 soros reagiram positivamente a este primeiro teste. Estes soros positivos, foram então direcionados para o teste confirmatório com a técnica do 2-Mercaptoetanol, no qual se confirmaram 21 fêmeas positivos.

Esses valores são próximos aos encontrados por Acypreste et al.(2002)⁸², após serem colhidas 870 amostras de sangue de vacas em lactação de 45 propriedades na região do entorno de Goiânia (até 100 km), os quais relataram prevalência de 17,78% para propriedades com animais infectados e 1,74% de animais positivos.

Valores próximos também foram relatados por Rocha (2009)⁴¹, ao pesquisar a soroprevalência, distribuição regional e fatores de risco da brucelose em fêmeas bovinas adultas no estado de Goiás, ao qual verificou uma prevalência de 19,5% (IC 95% [15,0 – 24,0]) para propriedades foco e 2,6% (IC 95% [2,0 – 3,1]) para animais positivos, no circuito produtor 2 (Região Sul e Sudeste do Estado), representado em sua maioria por propriedades com exploração leiteira. Ao observar as Figuras 01 e 02, é possível analisar que mais de 80% das propriedades amostradas na Regional Rio das Antas, estão localizadas neste circuito.

Considerando a região centro oeste do Brasil, as prevalências encontradas na regional Rio das Antas, interior de Goiás, foram inferiores às encontrados em diversas regiões

do interior dos estados do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Em estudo realizado por Bardall et al.(2016)³¹ no estado do Mato Grosso, constatou-se prevalências de focos e de animais positivos em 17,2% e 3,7% na região Leite, 21,2% e 6,4% na região Pantanal, 34,0% e 7,2% na região Engorda e 24,3% e 4,4% na região Cria. Em Mato Grosso do Sul, as prevalências encontradas por Leal Filho et al.(2016)³² para propriedades foco e bovinos positivos foram de 39,1% e 8,9% para região Pantanal, 25,3% e 6,1% para região Planalto Sul e 32,1% e 6,4% para região Planalto Norte.

Em Minas Gerais, estado com extensa área limítrofe a Goiás e localizado na região sudeste do Brasil obteve-se avanços no PNCEBT em relação à última década, com a redução da prevalência de 6% em rebanhos e 1,1% em animais, para 3,59% e 0,81% respectivamente para rebanhos e animais positivos, conforme estudo apresentado por Oliveira et al.(2016)²⁹. As prevalências verificadas em todas as 7 regiões do estado, tanto para rebanhos quanto para animais, foram inferiores em relação as obtidas na Regional Rio das Antas, com valores para propriedades foco variando de 2,02% na região Leste a 5,06% na região Triângulo Mineiro; e 0,55% a 1,23% para animais positivos, na região Sul/Sudoeste e região Zona da Mata respectivamente²⁹.

Para os estados do Tocantins e Bahia não houve atualização dos índices de prevalência da brucelose bovina, tendo o último estudo à nível estadual, sido realizado entre 2002 e 2003 no Tocantins e em 2004 na Bahia. Ogata et al.(2009)⁵² verificaram prevalências para propriedades foco, no Tocantins, variando de 5,84% na região Palmas/Pedro Afonso a 37,63% na região Araguatins; e prevalências de 2,0% a 8,54% para animais positivos, nas mesmas regiões. Alves et al.(2009) constataram na Bahia valores inferiores aos da Regional Rio das Antas, com prevalências de focos variando de 0,6% na Região Centro a 6,31% na Região Nordeste; e de 0,07% a 1,66% para animais positivos nestas mesmas regiões.

É interessante relatar que o PNCEBT foi instituído em 2001 para diminuir o impacto causado pela brucelose e tuberculose bovinas no Brasil e promover a competitividade na pecuária nacional⁷. Após 16 anos de implementação do programa, houve aparentemente uma pequena redução da prevalência da brucelose bovina no interior de Goiás, devido principalmente à vacinação obrigatória de fêmeas bovinas entre três e oito meses de idade com amostra da vacina B19, porém os resultados em termos de prevalência de propriedades, ainda são altos.

Segundo IN SDA nº 10, de 3 de março de 2017¹⁵, Unidades da Federação com prevalência de focos $\geq 10\%$ são classificados como de risco alto. Portanto, se fosse possível projetar os resultados deste estudo para o Estado como um todo, ainda sim, Goiás seria

classificado como de “Alto Risco”, permanecendo na mesma condição encontrada à aproximadamente 14 anos atrás, ao qual estudo desenvolvido por Rocha em 2003⁸, verificou a prevalência de 17,54%.

Percebe-se na Figura 03, a distribuição espacial das 95 propriedades sorteadas na Regional Rio das Antas. Os pontos assinalados na cor verde correspondem as propriedades cujos animais tiveram resultados negativos para brucelose bovina, enquanto que os pontos assinalados em vermelho, representam as propriedades onde se constatou foco da enfermidade. Municípios destacados em amarelo indicam ausência de foco e aqueles destacados em rosa, indicam a presença de foco(s).

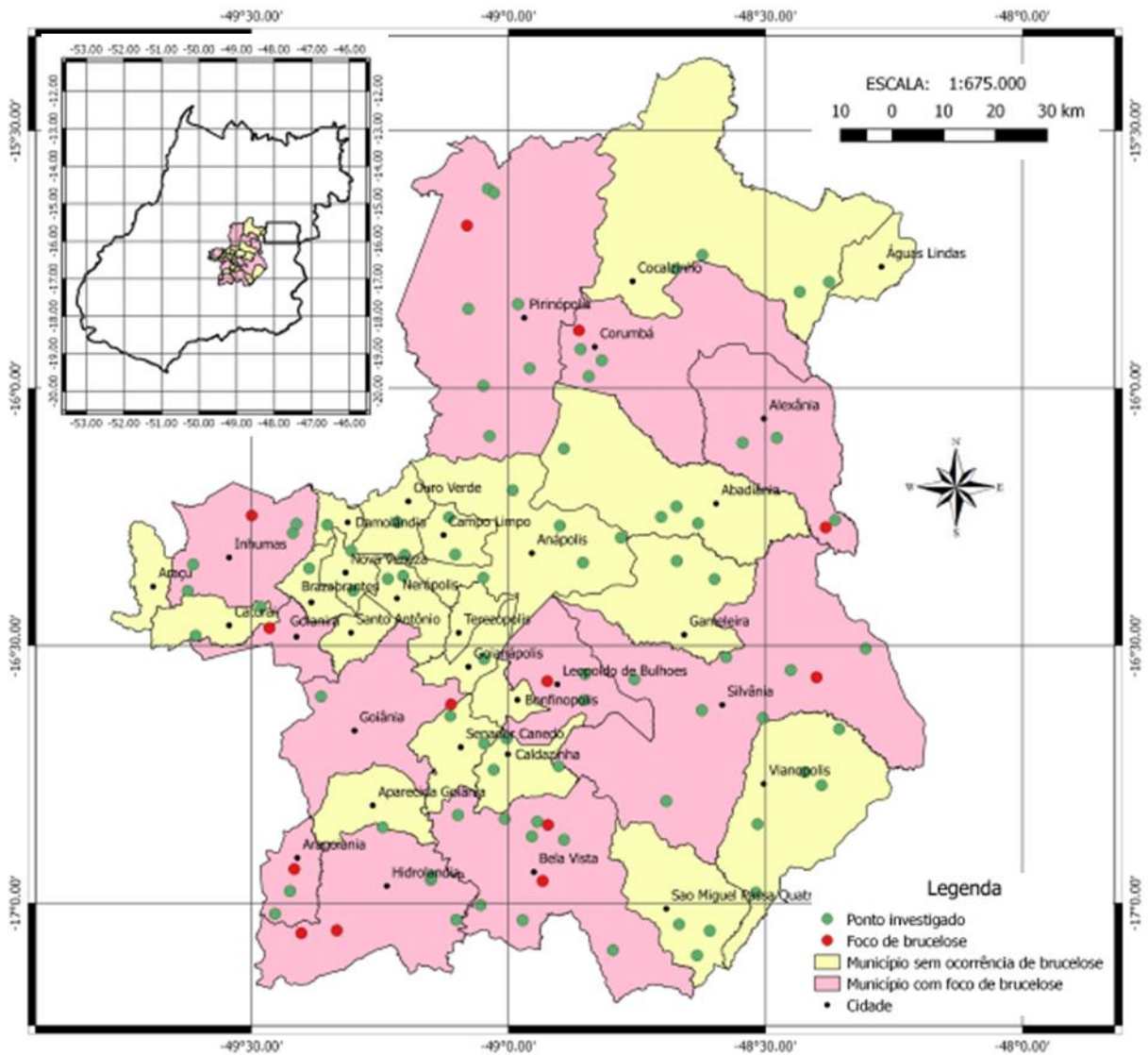


FIGURA 03 – Distribuição espacial das propriedades amostradas e propriedades foco de brucelose na Regional Rio das Antas/Goiás.

Sob o aspecto da distribuição espacial, observa-se que a doença está dispersa em todo o território estudado, com predominância de casos na região sudoeste, sendo que 38% de casos confirmados, estão localizados em três municípios (Bela Vista, Hidrolândia e Aragoiânia).

As informações contidas no questionário epidemiológico permitiram a caracterização dos sistemas de produção e avaliação dos fatores de risco relacionados à brucelose bovina.

Os dados referentes ao tipo de exploração das propriedades amostradas confirmaram a predominância de rebanhos com aptidão leiteira ou mista na região estudada. Das 95 propriedades sorteadas, 20 tinham como principal atividade exploradora, rebanhos com aptidão de corte, 45 aptidão leite e 30 aptidão mista. Em todos os tipos de exploração foram verificados rebanhos com animais positivos, sendo três em explorações de corte, cinco em leite e cinco em misto, conforme Tabela 05.

TABELA 05 – Relação entre resultado do diagnóstico de brucelose e tipos de exploração do rebanho bovino

Variável	Diagnóstico brucelose		Total*	p
	Negativo	Positivo		
Tipo de Exploração				
Corte	17 (85%)	3 (15%)	20	0,775
Leite	40 (89%)	5 (11%)	45	
Misto	25 (83%)	5 (17%)	30	

*Total de propriedades amostradas por tipo de exploração

Pode-se observar um maior número de animais positivos em rebanhos de aptidão leiteira (5/95) e mista (5/95), porém, proporcionalmente, maior frequência de sororeagentes foi constatada em rebanhos de exploração mista (17%) e corte (15%), conforme pode se observar na tabela 05.

Em estudos realizados por Barddal et al. (2016)³¹, bem como por Leal Filho et al.(2016)³², também relataram a associação da brucelose bovina nos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, ao tipo de exploração corte e mista.

Com relação ao sistema de criação, em 69 propriedades (72,6%) os animais eram criados extensivamente e 26 (27,4%) em semiconfinamento. Nenhuma propriedade amostrada adotava o manejo de confinamento. Ressalta-se que a preferência por sistema extensivo é

resultado da disponibilidade de pastagem, enquanto os outros sistemas exigem maiores investimentos em instalações, além de gastos com suplementação alimentar e controle sanitário.

A ordenha era realizada em 70 das 95 propriedades, gerando uma proporção de 73,7%. Das propriedades onde os animais eram ordenhados, em 39 (55,7%) era feita uma vez ao dia e em 31(44,3%), duas ou mais vezes no dia.

Embora o objetivo do trabalho não tenha sido centrado no ser humano, a aplicação do questionário epidemiológico possibilitou, mesmo que de maneira simples, correlacionar alguns fatores de risco com a infecção no homem.

Diversos autores^{7,12,13,22,83} relataram a ingestão de leite cru e seus derivados como sendo uma das principais causas de transmissão da brucelose ao ser humano. Foi observado durante o estudo em relação às 95 propriedades amostradas que 35 produziam derivados do leite (queijo em sua maioria) e em seis delas foram detectados animais positivos; 34 propriedades tinham nas famílias o hábito cotidiano de ingerir leite cru e em duas destas propriedades também foram verificados bovinos sororeagentes no rebanho; três propriedades praticavam a venda direta do leite ao consumidor e em uma delas foi confirmado foco de brucelose na propriedade. Os dados podem ser melhor observados na Tabela 06.

TABELA 06 – Correlação entre variáveis: produção de queijo, ingestão de leite cru, venda de leite diretamente ao consumidor e diagnóstico de brucelose

Variável	Diagnóstico de brucelose		Total	p
	Negativo	Positivo		
Produção de queijo ou manteiga				
Sim	29	6	35	0,519
Não	50	7	57	
Não informado			3	
Ingestão de leite cru				
Sim	32	2	34	0,070
Não	48	11	59	
Não informado			2	
Venda de leite diretamente ao consumidor				
Sim	2	1	3	0,377
Não	80	12	92	

Considerando que estas variáveis estão diretamente relacionadas à transmissão da doença para o homem, se fazem necessárias campanhas de educação em saúde para promover orientações aos produtores rurais sobre a importância da brucelose para a saúde pública, os

riscos e mecanismos de prevenção e controle e da doença. É fundamental que o produtor tenha consciência dos danos que a brucelose pode causar tanto à saúde pública, quanto à saúde animal.

Em pesquisa desenvolvida por Barbosa et al.⁸⁴ em 2014, na qual se entrevistou 40 produtores do município de Redenção do Gurgueia/PI, observou-se que 100% dos entrevistados não exigiam teste de brucelose ao adquirir animais e não realizavam testes sorológicos regularmente em sua propriedade, 95% não tinham orientação técnica, 91,55% não possuíam assistência veterinária quando vacinavam o rebanho, 56,6 % não sabiam como combater ou prevenir a doença, 54,5% não sabiam identificar os sinais da brucelose e 37,5% não sabiam que esta doença causa risco à saúde humana. Tais resultados demonstram o grande desconhecimento por parte dos proprietários e corroboram com este estudo quanto a necessidade de se desenvolverem campanhas de educação em saúde, focando em especial a importância da enfermidade, seus impactos sanitários, sociais e econômicos e a adoção de medidas profiláticas adequadas.

Para comparação entre variáveis obtidas no questionário epidemiológico com a variável animal positivo ou negativo ao Teste 2-ME, foi utilizado o Teste Qui-quadrado χ^2 para independência (ao nível de 5% de probabilidade). As variáveis não obtiveram efeito significativo sobre a doença, provavelmente em função do número de propriedades amostradas. Algumas variáveis foram selecionadas para discussão e podem ser visualizadas conforme Tabela 07.

TABELA 07 – Resultado da análise univariada dos possíveis fatores de risco para brucelose em fêmeas bovinas \geq 24 meses na Regional Rio das Antas/Goiás

Variável e categorias	Positivos/Total	χ^2	p
Aluguel de pastagem			
Sim	3/36	1,57	0,209
Não	10/58		
Vacinação contra brucelose			
Sim, fêmeas entre 3 e 8 meses	12/93	1,54	0,213
Sim, fêmeas qualquer idade	0		
Não	1/2		
Ocorrência de aborto últimos 12 meses			
Sim	1/11	0,359	0,548
Não	12/77		

Continua...

Continuação...

Variável e categorias	Positivos/Total	χ^2	p
Assistência veterinária			
Sim	4/36	0,332	0,563
Não	9/59		
Presença de áreas alagadiças			
Sim	2/19	0,230	0,631
Não	11/75		
Aquisição de animais para reprodução			
Sim	8/53	0,203	0,651
Não	5/42		
Utilização de inseminação artificial			
Inseminação artificial e touro	1/9	0,794	0,672
Somente inseminação artificial	1/3		
Não	11/81		
Realização de diagnóstico de brucelose			
Sim	4/25	0,149	0,698
Não	9/70		

Ao ser questionado aos produtores rurais, se os mesmos tinham o hábito de alugar pastos próprios para terceiros ou se alugavam pastos de terceiros para seu rebanho, 36 (38%) produtores responderam que sim e em três destas propriedades foram constatado focos de brucelose. Esta prática favorece o contato dos animais com ambientes possivelmente contaminados, pois, dependendo das condições ambientais, os produtos do aborto podem manter a *Brucella* spp. viável por aproximadamente 180 dias⁷.

Em relação à prática da vacinação contra brucelose, 93 proprietários (97,9%) afirmaram aplicar a vacina em fêmeas bovinas com idade entre três e oito meses, conforme preconiza o PNCEBT, e apenas em duas propriedades (2,1%) relatou-se a não vacinação. Acredita-se que o índice de vacinação em propriedades próximo a 100%, seja consequência de respostas falsas em relação ao questionamento, em função do produtor julgar que poderia ser penalizado caso respondesse a verdade. A presença de focos em aproximadamente 13% das propriedades ditas vacinadas indicam a incerteza deste índice. O PNCEBT preconiza que as coberturas vacinas nos estados sejam acima de 80%, porém Kuroda⁸⁵ alerta sobre a dificuldade de estabelecer corretamente estes índices.

Reafirmando a importância da prática de vacinação, no modelo final de regressão logística para fatores de risco da brucelose em fêmeas bovinas adultas detectou-se, neste

estudo, efeito significativo somente para variável vacinação com a vacina B19, conforme registrado na Tabela 08.

TABELA 08 – Resultado da análise de regressão logística para fatores de risco (*Odds ratio*) associados a brucelose em fêmeas bovinas adultas na Regional Rio das Antas/Goiás

Variável	Diagnóstico Brucelose		P*	<i>Odds ratio</i>	IC (95%)
	Negativo	Positivo			
Vacinação					
Não	95,42 %	4,58 %	0,0395	2,85	[1,05 – 7,04]
Sim	98,33 %	1,67 %			

p*= valor de probabilidade da análise de regressão logística

O valor de *Odds Ratio*, na Tabela 08, nos permite inferir que em propriedades onde não se realiza a vacinação das bezerras contra brucelose, existe 2,85 vezes mais chances de ocorrer a enfermidade, em relação àquelas que praticam a referida vacinação. A associação entre vacinação de bezerras e a diminuição do risco de brucelose comprova a eficiência desta medida preventiva. Assim, sugere-se a intensificação da vacinação com amostra B19 em fêmeas com idade entre três e oito meses, e RB51 para aquelas não vacinadas no período especificado para B19, visando atingir alta cobertura vacinal e diminuição da prevalência na região estudada.

Quanto a problemas reprodutivos, constatou-se que em 77 propriedades (81%) não foi relatada ocorrência de aborto, embora em 12 tenha sido constatada positividade. Destas, cinco eram de exploração leiteira, outras cinco de exploração mista (leite e corte) e somente duas eram de corte. Deve-se registrar que atividades com exploração do tipo leiteira e mista, implicam em maior monitoramento dos animais e conseqüentemente, a verificação do aborto, caso ocorresse. Esse fato pode sugerir a inadequação da informação prestada pelo produtor.

Motta²⁸ procedendo análise de diversos estudos relacionados a fatores de risco, correlacionou a ocorrência de aborto nos últimos 12 meses ou nascimento de bezerros fracos, com a condição de foco de brucelose bovina. Tal associação pode ser feita uma vez que estas diferentes manifestações clínicas podem ocorrer em decorrência do desenvolvimento da imunidade no animal.

Produtores de 59 propriedades (62,10%) relataram não ter assistência veterinária em suas fazendas e em nove destas propriedades, constatou-se a brucelose. Esta condição reflete-se negativamente na sanidade animal, como apontado por Motta²⁸ que relatou a

associação da assistência veterinária na propriedade rural como fator de proteção, ou seja, propriedades com assistência veterinária têm menor probabilidade de se ter a infecção por *Brucella abortus* no rebanho.

A Regional Rio das Antas está localizada parcialmente nas bacias Hidrográficas do Rio Paranaíba e do Rio Tocantins⁸⁶. Dentre os produtores entrevistados, 75 (80%) relataram que suas propriedades não possuem áreas alagadiças em suas propriedades e 19 (20%) afirmaram que seus rebanhos tem acesso a tais áreas. Isso se reveste de importância pois, como destacado por Alves et al.(2009)³⁷ apontaram a presença de áreas alagadiças constituindo-se como fator de risco para brucelose no estado da Bahia. Corroborando com tal afirmação, Baumgarten et al.(2016)³³ e Inlamea et al.(2016)³⁰ associaram a presença de tais áreas, como sendo condição de risco para foco de brucelose respectivamente em Santa Catarina e Rondônia.

Em relação a aquisição de animais com finalidade de reprodução, 53 (55,7%) produtores rurais afirmaram realizar esta prática. Em oito propriedades foram detectados animais positivos para brucelose ao teste de diagnóstico. A introdução de animais reprodutores tem sido relatada na literatura, como um fator de risco clássico para brucelose bovina. Autores como Barddal et al.(2016)³¹, Leal Filho et al.(2016)³², Alves et al.(2009)³⁷, Dias et al.(2009)⁴⁵, Gonçalves et al.(2009)⁴² e Rocha et al.(2009)⁴¹ constataram uma maior chance de ocorrência da infecção em fazendas localizadas nos estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Bahia, Paraná, Minas Gerais e Goiás, que realizavam a compra de animais para reprodução. Os citados autores ressaltaram que o problema não está na prática da compra de reprodutores, mas sim na aquisição de animais sem a realização de exames ou sem o conhecimento da condição sanitária da propriedade de origem. Assim, se recomenda que esta aquisição ocorra mediante a realização de testes de diagnóstico que garantam a sanidade do rebanho, conduta não seguida por parte dos produtores amostrados no presente estudo.

Verificou-se que a inseminação artificial (IA) é um método de reprodução pouco utilizado nas propriedades avaliadas. Em 81 (87%) propriedades não se utilizava esta técnica, nove (9,6%) a utilizava associada com touro e apenas em três (3,2%) propriedades foi relatado o emprego da técnica. É importante ressaltar que participação dos touros na transmissão da brucelose pela monta natural é pequena¹³. Ainda que no presente estudo tenham coincididos 11 casos de brucelose dentre as 81 propriedades que utilizavam monta natural, postula-se que tal transmissão deve ter ocorrido em sua maioria, pela via oral.

Tal afirmação se baseia na condição de que as barreiras inespecíficas presentes na vagina dificultam o processo de infecção através da monta natural⁷. Deve-se ressaltar que a IA

com sêmen de touros infectados é uma fonte de transmissão eficiente, uma vez que o sêmen é depositado diretamente no interior do útero, local que diferentemente da vagina, não possui mecanismos de defesas naturais⁵⁵. Sabe-se que os procedimentos de processamento do sêmen a ser utilizado na IA não comprometem a viabilidade das brucelas caso estejam presentes, todavia, centrais de inseminação realizam diversos protocolos de triagem clínicos e sorológicos dos touros, de tal forma a reduzir ao mínimo a possibilidade de se obter sêmen de um touro infectado⁸⁷.

Quanto à realização de exames de brucelose nos rebanhos bovinos avaliados, 70 (73,6%) produtores afirmaram não adotar este procedimento. Dentre estas propriedades, foi constatada a presença de foco em nove. Esta frequência de produtores que não realizam exames é expressiva e preocupante. É importante ressaltar que a realização de exames evita a introdução de animais portadores da infecção e detecta os já existentes na propriedade, permitindo assim a eliminação dos positivos e consequentemente, o auxílio no controle da brucelose no rebanho²⁷.

Os dados obtidos neste estudo apontaram ainda para a necessidade da intensificação das ações de educação em saúde, visando promover orientações aos produtores rurais sobre a importância da brucelose, seus impactos sanitários, econômicos e sociais, além da conscientização de se evitar hábitos como o consumo de leite cru, devido ser esta uma das principais causas de exposição humana à doença.

Finalizando, destaca-se ainda que as informações aqui obtidas serão destinadas a um projeto mais amplo, que abrange a atualização da prevalência, distribuição regional e fatores de risco associados a brucelose bovina em fêmeas adultas no Estado de Goiás.

6. CONCLUSÃO

A prevalência de brucelose em rebanhos e em animais é considerada alta na região avaliada, com ampla distribuição espacial, dispersa em todo o território estudado e em todos os sistemas de produção.

Dentre os fatores associados ao risco de brucelose em fêmeas bovinas adultas, a vacinação mostra-se associada.

Os índices de vacinação não condizem com o alto índice de animais e propriedades positivas para brucelose identificados.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Febre Aftosa. Mapa da Febre Aftosa. Rebanho Nacional 2016 [acesso 14/08/2017]. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animais-e-vegetal/saude-animais/programas-de-saude-animais/febre-aftosa/mapa-da-aftosa](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animais/programas-de-saude-animais/febre-aftosa/mapa-da-aftosa).
2. ABIEC. Exportações de Carne Bovina do Brasil. 2016. [acesso 07/06/2017]. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/ExportacoesPorAno.aspx>.
3. Goiás. Agência Goiana de Defesa Agropecuária. Sanidade Animal. Programa Estadual de Enfermidades Vesiculares (Febre Aftosa)-PEEV. Quadro Rebanho/Vacinação/Propriedades de Goiás [online]. 2017. [acesso 14/08/2017]. Disponível em: <http://www.agrodefesa.go.gov.br/post/ver/183846/programa-estadual-de-enfermidades-vesiculares-febre-aftosa---peev>.
4. Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores IBGE. Estatística da Produção Pecuária [online]. Março de 2017. [acesso 08/06/2017]. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201604caderno.pdf.
5. OIE. Terrestrial Animal Health Code. Infection with *Brucella abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*. [online]. Paris: OIE, 2016. [acesso 09/06/2017]. Disponível em: http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_bovine_brucellosis.htm.
6. OIE. Animal Health in the World. Listed diseases 2017 [online]. Paris: OIE, 2017. [acesso 09/06/2017]. Disponível em: <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2017/>.
7. Brasil. Manual Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Defesa Animal. Brasília. (2006);
8. Rocha WV. Soroprevalência, distribuição regional e fatores de risco da brucelose em fêmeas bovinas adultas no Estado de Goiás. [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária; 2003.
9. Sanches LMG. Análise comparativa da evolução da brucelose humana e animal, em Portugal Continental de 2002 a 2011. [Dissertação] Porto: Universidade do Porto, Faculdade de Medicina; 2013.
10. Lucas A. Simulação de impacto econômico da brucelose bovina em rebanhos produtores de leite das regiões Centro Oeste, Sudeste e Sul do Brasil. [Tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2006.

11. Alves AJS. Análise econômica das ações de combate à brucelose bovina no Brasil. [Tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2013.
12. Paulin LMS, Ferreira Neto JS. Brucelose em búfalos. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo. 2008;75(3):389-401.
13. Lage AP, Poester FP, Paixão TA, Silva TMA, Xavier MN, Minharro S, Miranda KL, Alves CM, Mol JPS, Santos RL. Brucelose bovina: uma atualização. Revista Brasileira de Reprodução Animal. 2008;32(3):202-12.
14. Ferreira Neto JS, Silveira GB, Rosa BM, Gonçalves VSP, Grisi-Filho JHH, Amaku M, Dias RA, Ferreira F, Heinemann MB, Telles EO. Analysis of 15 years of the National Program for the Control and Eradication of Animal Brucellosis and Tuberculosis, Brazil. Semina: Ciências Agrárias. 2016;37 (5):3385-402.
15. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Estabelece Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina - PNCEBT e Classificação das Unidades da Federação de acordo com o grau de risco para brucelose e tuberculose. Instrução Normativa SDA nº10 de 03 mar 2017. Diário Oficial da União, Brasília (20 jun 2017); Sec.1:4-8
16. Ogata RA. Caracterização espacial da brucelose bovina no Estado do Tocantins. [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2009.
17. Barbosa AA. Uso da vacina cepa rugosa contra brucelose em fêmeas bovinas em diferentes estágios da gestação. [Dissertação]. Alfenas: Universidade José do Rosário Vellano, Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária - Reprodução, Sanidade e Bem Estar Animal; 2014.
18. Licurgo JB. Prevalência e Fatores de Risco da Brucelose Bovina no Distrito Federal, Brasil, 2015. [Dissertação]. Brasília: Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária; 2016.
19. Cardoso PG, Macedo GC, Azevedo V, Oliveira SC. Brucella spp noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system. Microbial Cell Factories [online]. 2006; 5 (13). [acesso 16/06/2017]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1435926/>.
20. Soler-Lloréns PF, Quance CR, Lawhon SD, Stuber TP, Edwards JF, Ficht TA, Robbe-Austerman S, O'Callaghan D, Keriell A. A *Brucella* spp. Isolate from a Pac-Man Frog (*Ceratophrys ornata*) Reveals Characteristics Departing from Classical Brucellae. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology [online]. 2016; 6: 116 [acesso 16 jun 2017]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5040101/>
21. Sola MC, Freitas FA, Sousa Sena EL, Mesquita AJ. BRUCELOSE BOVINA: REVISÃO Enciclopédia Biosfera. 2014;10 (18):686-714.

22. Pessegueiro P, Barata C, Correia J. Brucelose – uma revisão sistematizada. *Medicina Interna*. 2003;10(2):91-100.
23. Romani AF. Investigação soropidemiológica e molecular de brucelose e leptospirose em núcleos de conservação de gado curraleiro pé duro e pantaneiro. [Tese]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia; 2012.
24. Pacheco WA. Excreção de *Brucella abortus*, estirpe B19 pelo leite e urina de fêmeas bovinas de diferentes faixas etárias vacinadas contra brucelose e sua relação com o ciclo reprodutivo [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2013.
25. Ferreira Neto JS. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Brasil: bases para as intervenções. 2009. 1-16. [acesso 09/06/2017]. Disponível em: <http://189.126.110.61/cab/article/view/24290>.
26. Paulin LM, Ferrreira Neto JS. A experiência brasileira no combate à brucelose bovina. *Arquivos do Instituto Biológico*. 2002;69(2):105-12.
27. Alves AJS. Caracterização epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Bahia. [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2008.
28. Alencar Mota ALA. Fatores de risco para brucelose bovina no Brasil. [Dissertação]. Brasília: Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária; 2012.
29. Oliveira LF, Dorneles EMS, Alencar Mota ALA, Gonçalves VSP, Ferreira Neto JS, Ferreira F, Dias RA, Telles EO, Grisi-Filho JHH, Heinemann MB. Seroprevalence and risk factors for bovine brucellosis in Minas Gerais State, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*. 2016;37(5Supl2):3449-66.
30. Inlamea OF, Rocha AB, Ferreira F, Grisi Filho JHH, Heinemann MB, Dias RA, Telles EO, Gonçalves VSP, Amaku M, Ferreira Neto JS. Effect of vaccination in lowering bovine brucellosis in the state of Rondônia, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*. 2016;37(5Supl2):3493-506.
31. Barddal JEI, Quixabeira-Santos JC, Lopes IF, Ferreira Neto JS, Ferreira F, Amaku M, Dias RA, Telles EO, Grisi Filho JHH, Heinemann MB. Effect of vaccination in lowering the prevalence of bovine brucellosis in the state of Mato Grosso, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*. 2016;37(5Supl2):3479-92.
32. Leal Filho JM, Bottene IFN, Monteiro LARC, Pellegrin AO, Gonçalves VSP, Ferreira F, Dias RA, Amaku M, Telles EO, Grisi-Filho JHH. Control of bovine brucellosis from 1998 to 2009 in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*. 2016;37(5Supl2):3467-78.
33. Baumgarten KD, Veloso FP, Grisi-Filho JHH, Ferreira F, Amaku M, Dias RA, Telles EO, Heinemann MB, Gonçalves VSP, Ferreira Neto JS. Prevalence and risk factors for

- bovine brucellosis in the State of Santa Catarina, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*. 2016;37(5Supl2):3425-36.
34. Minervino AHH, Calhau AS, Alves Filho A, Barbosa RS, Neves KAL, Barros IO, Barreto RA, Ortolani EL. Estudo retrospectivo da ocorrência de bovinos soro reagentes à brucelose no Estado do Pará. *Acta Veterinaria Brasilica*. 2011;5(1):47-53.
 35. Figueiredo S, Rocha V, Higino S, Batista C, Alves C, Clementino I, Azevedo S. Brucelose bovina no Estado da Paraíba: estudo retrospectivo. *Arquivos do Instituto Biológico*. 2011;78(1):9-16.
 36. Bonita R, Beaglehole R, Kjellstrom T. *Epidemiologia Básica*. 2ª edição. São Paulo: Santos Editora; 2010. 213p.
 37. Alves AJS, Gonçalves VSP, Figueiredo VCF, Lôbo JR, Bahiense L, Amaku M, Ferreira F, Ferreira Neto JS, Dias RA. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Bahia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):6-13.
 38. Salman M, Meyer M. Epidemiology of bovine brucellosis in the Mexicali Valley, Mexico: literature review of disease-associated factors. *American Journal of Veterinary Research*. 1984;45(8):1557-60.
 39. Gonçalves VSP, Ribeiro LA, Caldas RdA, Francisco PFC, Dias RA, Ferreira F, Amaku M, Ferreira Neto JS, Figueiredo VCFd, Lôbo JR. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Distrito Federal. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):14-18.
 40. Azevedo SSd, Ferreira Neto JS, Dias RA, Ferreira F, Amaku M, Figueiredo VCFd, Lôbo JR, Gonçalves VSP, Souza A, Vasconcellos SA. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Espírito Santo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):19-26.
 41. Rocha WV, Gonçalves VSP, Coelho CGNFL, Brito WMED, Dias RA, Delphino MKVC, Ferreira F, Amaku M, Ferreira Neto JS, Figueiredo VCF, Lôbo JR, Brito LAB. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Goiás. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):27-34.
 42. Gonçalves VSP, Delphino MKdVC, Dias RA, Ferreira F, Amaku M, Ferreira Neto JS, Porto TB, Alves C, Figueiredo VCFd, Lôbo JR. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):35-45.
 43. Chate SC, Dias RA, Amaku M, Ferreira F, Moraes GM, Costa Neto A, Monteiro LARC, Lôbo JR, Figueiredo VCFd, Gonçalves VSP. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Mato Grosso do Sul. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):46-55.
 44. Negreiros RL, Dias RA, Ferreira F, Ferreira Neto JS, Gonçalves VSP, Silva MCP, Figueiredo VCF, Lôbo JR, Freitas J, Amaku M. Situação epidemiológica da brucelose

- bovina no Estado de Mato Grosso. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):56-65.
45. Dias JA, Müller EE, Dias RA, Freitas JcD, Amaku M, Ferreira F, Silva MdCP, Lôbo JR, Figueiredo VCFd, Gonçalves VSP. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Paraná. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):66-76.
 46. Klein-Gunnewiek MFC, Amaku M, Dias RA, Ferreira F, Gitti CB, Pereira LA, Figueiredo VCF, Lobo JR, Gonçalves V, Ferreira Neto JS. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Rio de Janeiro. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):77-84.
 47. Villar KS, Amaku M, Dias RA, Ferreira Neto JS, Benitez F, Gonçalves VSP, Figueiredo VCF, Lôbo JR, Ferreira F. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Rondônia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):85-92.
 48. Marvulo MFV, Ferreira F, Dias RA, Amaku M, Croff ACM, Gonçalves VSP, Figueiredo VCFd, Lôbo JR, Ferreira Neto JS. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Rio Grande do Sul. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):93-102.
 49. Sikusawa S, Amaku M, Dias RA, Ferreira Neto JS, Martins C, Gonçalves VSP, Figueiredo VCF, Lôbo JR, Ferreira F. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Santa Catarina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):103-08.
 50. Silva VS, Dias RA, Ferreira F, Amaku M, Costa E, Lôbo JR, Figueiredo VCFd, Gonçalves VSP, Ferreira Neto JS. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Sergipe. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):109-17.
 51. Dias RA, Gonçalves VSP, Figueiredo VCF, Lôbo JR, Lima ZMB, Paulin LMS, Gunnewiek MFK, Amaku M, Ferreira Neto JS, Ferreira F. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de São Paulo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):118-25.
 52. Ogata RA, Gonçalves VSP, Figueiredo VCF, Lôbo JR, Rodrigues A, Amaku M, Ferreira F, Ferreira Neto JS, Dias RA. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Tocantins. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):126-34.
 53. Poester FP, Figueiredo VCFd, Lôbo JR, Gonçalves VSP, Lage AP, Roxo E, Mota PMPC, Müller EE, Ferreira Neto JS. Estudos de prevalência da brucelose bovina no âmbito do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose: Introdução. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(supl 1):1-5.

54. Poester FP. Eficácia da vacina RB51 em novilhas. [Tese]. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária; 2006.
55. Paulin LMS, Ferreira Neto JS. O combate à brucelose bovina: Situação brasileira. Jaboticabal: Funep. 2003:154.
56. Schurig GG, Sriranganathan N, Corbel MJ. Brucellosis vaccines: past, present and future. *Veterinary microbiology*. 2002;90(1):479-96.
57. Ruibal MDPV. Avaliação de diferentes protocolos de extração de DNA para detecção de *Brucella abortus* a partir de diferentes tecidos de vacas infectadas experimentalmente com a cepa 2308.[Dissertação]. Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2009.
58. Barbosa SM. Isolamento, tipificação e genotipagem de *Brucella abortus* isoladas de bovinos no Brasil. [Tese]. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária; 2009.
59. Santos R, Peixoto M, Serakides R, Costa G, Martins N. Detección de *Brucella abortus* (muestra B19) por el complejo inmunoenzimático avidina-biotina-peroxidasa en el testículo y en el epidídimo de bovinos inoculados experimentalmente. *Archivos de Reproduccion Animal*. 1998;6:34-41.
60. Orlando DR. Diagnóstico histopatológico, imuno-histoquímico e molecular das principais causas infecciosas de aborto em bovinos de Minas Gerais. [Dissertação]. Lavras: Universidade Federal de Lavras, Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias; 2013.
61. Orlando DR, Costa RC, Abreu RVS, Abreu CC, Nakagaki KYR, Wouters ATB, Raymundo DL, Varaschin MS. Morphological and immunohistochemical characterization of the lesions in cases of bacterial and viral bovine abortion in southern Minas Gerais, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2014;34(10):974-80.
62. Umeda LML. Avaliação da persistência da vacina B19 pelo teste do antígeno acidificado tamponado e PCR em bezerras vacinadas. [Dissertação] Campo Grande: Universidade Federal do Mato Grosso do Sul; 2014.
63. Figueiredo AO. Diagnóstico sorológico da brucelose bovina. [Especialização *Latu sensu*]. Campo Grande: UCB; 2008.
64. Megid J, Ribeiro MG, Júnior GM, Crocci AJ. Avaliação das provas de soroaglutinação rápida, soroaglutinação lenta, antígeno acidificado e 2-mercaptoetanol no diagnóstico da brucelose bovina. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 2000;37(5):395-99.
65. Silva Júnior FF. Avaliação do teste do anel na vigilância epidemiológica da brucelose bovina em rebanhos e laticínios. [Dissertação]. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2003.

66. Nielsen K. Diagnosis of brucellosis by serology. *Veterinary microbiology*. 2002;90(1):447-59.
67. Paulin LM. Brucelose. *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*. 2003;70(2):239-49.
68. Maurelio APV, Santarosa BP, Ferreira DOL, Martins MTA, Paes AC, Megid J. Situação epidemiológica mundial da brucelose humana. *Veterinária e Zootecnia*. 2016;23(4):547-60.
69. Homem VSF, Higa ZMM, Ferreira Neto JS. Proposed model to study the economic impact of bovine brucellosis and tuberculosis: Case study of Pirassununga, SP, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*. 2016;37(5 supl 2):3793-802.
70. Santos RL, Martins TM, Borges AM, Paixão TA. Economic losses due to bovine brucellosis in Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2013;33(6):759-64.
71. Cal CAMF, Valente LC, Pereira MLC, Mota MA, Nakaoka VYES, Kashiwabara TGB. Brucelose: Uma revisão de literatura. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research*. 2014;6(3):53-56.
72. Faria APP. Análise em *multilocus* de repetições em *tandem* de número variável (MLVA) de linhagens vacinais B19 e RB51 de *Brucella abortus*. [Dissertação]. Brasília: Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária; 2010.
73. Tuon FF, Gondolfo RB, Cerchiari N. Human to human transmission of *Brucella* – a systematic review. *Tropical Medicine & International Health*. 2017.
74. OIE. World Animal Health Information Database (WAHIS) Interface. [online]. 2015. [acesso 29/06/2017]. Disponível em: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Countryinformation/Zoonoses#BRA.
75. Coordenação Estadual de Zoonoses. Dados Brucelose SINAM [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por Thiago-mm@agrodefesa.gov.br [30 jun 2017].
76. Genovez ME. Brucelose humana reemerge como preocupante doença ocupacional. *Boletim APAMVET*. 2014;5(5):15-19.
77. EpiTools. EpiTools epidemiological calculators. [online]. [acesso 29/06/2017]. Disponível em: <http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=home>.
78. Brasil. Estudo Soroepidemiológico da Brucelose - Manual de Procedimentos. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Defesa Animal. Brasília (2014);
79. Noordhuizen JPTM, Frankena K, Van Der Hoofd CM, Graat EAM. Application of quantitative methods in veterinary epidemiology. Wageningen: Wageningen Pers; 1997. 415p.

80. Pfeiffer DU. Veterinary epidemiology – an introduction. Londres: Royal Veterinary College; 2002. 61p
81. R. Core Team (2017). R: A language language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. . [acesso 13/06/2017]. Disponível em: <http://www.R-project.org/>.
82. Acypreste CS, Silva LAF, Mesquita AJ, Fioravanti MCS, Dias Filho FC, Ramos LS. Diagnóstico da frequência da brucelose bovina em vacas em lactação na bacia leiteira de Goiânia pelas provas do Anel do Leite e Rosa Bengala. *Ciência Animal Brasileira*. 2002;3(1):59-65.
83. Lawinsky MLdJ, Ohara PM, Elkhoury MdR, Faria NdC, Cavalcante KRLJ. Estado da arte da brucelose em humanos. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. 2010;1(4):75-84.
84. Barbosa ES, Araujo JIM, Silva ALA, Araujo JM. Perfil do conhecimento dos produtores sobre a brucelose na saúde pública, em Redenção do Gurgueia-Piauí. *PUBVET*. 2016;10:795-872.
85. Kuroda RBS, Negreiros RL, Ossada R, Ferreira Neto JS, Amaku M, Dias RA, Telles EO, Grisi-Filho JHH, Heinemann MB, Ferreira F. Method for determining bovine brucellosis vaccination coverage. *Semina: Ciências Agrárias*. 2016;37(5):3759-66.
86. SEPLAN-GO / SEPIN / Gerência de Estatística Socioeconômicas. Estado de Goiás - Bacias Hidrográficas. 2003. [acesso 11/07/2017]. Disponível em: <http://www.imb.go.gov.br/pub/anuario/2003/SITUACAOFISICA/tabela11.htm>.
87. Monteiro LAR, Pellegrin AO, Ishikawa MM, Osório ALA. Investigação epidemiológica da brucelose bovina em um estrato do Estado de Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2006;26(4):217-22.

ANEXOS

ANEXO I

TERMO DE COMPROMISSO DO PRODUTOR

Eu, _____,
Produtor Rural portador do R.G. nº _____, e CPF nº _____,
responsável legal pelos animais criados
na Fazenda _____, localizada no município de _____,
DECLARO para os devidos fins que
participarei voluntariamente do estudo epidemiológico da brucelose bovina que esta
sendo realizado na Regional Rio das Antas, Goiás. Para tanto autorizo a coleta de
amostras de sangue dos animais sorteados para realização de testes laboratoriais
de brucelose. Comprometo-me também a auxiliar as atividades dos médicos
veterinários da AGRODEFESA, no que diz respeito a conter os animais, facilitar os
trabalhos de coleta de amostras e outros que se fizerem necessários.

Telefone para contato (____) _____.

Por ser verdade, firmo o presente Termo de Compromisso.

_____ - GO, _____ de _____ de 201____.

Assinatura do produtor

ANEXOII

BRUCELOSE BOVINA E BUBALINA																		
Estudo soroepidemiológico																		
01-Identificação: Município: _____ Região: _____ UF: _____ Proprietário: _____ Propriedade: _____ Código de cadastro no serviço de defesa: _____												02 - Data da visita e colheita: ____/____/____ 03 - Código do rebanho no estudo (10 dígitos) _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ 04 - Coordenadas Lat: ____° ____' ____" Lon: ____° ____' ____" Altitude _____						
05- Tipo da Exploração: () corte () leite () mista 06- Tipo de Criação: () confinado () <u>semi-confinado</u> () extensivo 07- N° de Ordenhas por dia (apenas leite e mista): () 1 ordenha () 2 ou 3 ordenhas <input type="checkbox"/> Não ordenha 08- Tipo de Ordenha (apenas leite e mista): () manual () mecânica ao pé () mecânica em sala de ordenha () Não ordenha 09- Produção de leite(apenas leite e mista): a) N° de vacas em lactação: _____ b) Produção diária de leite na fazenda: _____ litros 10- Usa inseminação artificial? () não () usa inseminação artificial e touro () usa só inseminação artificial 11- Raça predominante - Bovinos: () zebu () europeu de leite () europeu de corte () mestiço () outras raças - Bubalinos: () <u>murrah</u> () mediterrâneo () <u>carabao</u> () <u>jaffarabadi</u> () outras raças																		
12(a)- Bovinos existentes								12(b)- Bubalinos existentes										
Machos Castrados	Machos inteiros (meses)				Fêmeas (meses)				Machos Castrados	Machos inteiros (meses)				Fêmeas (meses)				
	Total	0-6	6-12	12-24	> 24	0-6	6-12	12-24		> 24	Total	0-6	6-12	12-24	> 24	0-6	6-12	12-24
13- Outras espécies na propriedade: () bovinos/caprinos () equídeos () suínos () aves () cão () gato 14- Espécies silvestres em vida livre na propriedade: () não tem () cervídeos () capivaras () outras:..... 15- Alguma vaca/búfala abortou nos últimos 12 meses? () não () sim () não sabe 16- O que faz com o feto abortado e a placenta? () enterra/joga em fossa/queima () alimenta porco/cão () não faz nada 17- Faz testes para diagnóstico de brucelose? () não () sim Regularidade dos testes: () uma vez ao ano () duas vezes ao ano () quando compra animais () quando há casos de aborto na fazenda () quando exigido para trânsito/eventos/crédito 18- Compra fêmeas ou machos com finalidade de reprodução? () não () sim Onde/de quem: () em exposição () em leilão/feira () de comerciante de gado () diretamente de outras fazendas 19- Vende fêmeas ou machos para reprodução? () não () sim A quem/onde: () em exposição () em leilão/feira () a comerciante de gado () diretamente a outras fazendas 20- Vacina contra brucelose? () não () sim, apenas fêmeas até 8 meses de idade () sim, fêmeas de qualquer idade 21- Local de abate das fêmeas e machos adultos no fim da vida reprodutiva: () na própria fazenda () em estabelecimento sem inspeção veterinária () em estabelecimento de abate com inspeção veterinária () não abate 22- Aluga pastos em alguma época do ano? () não () sim 23- Tem pastos em comum com outras propriedades? () não () sim 24- Existem na propriedade áreas alagadiças às quais o gado tem acesso? () não () sim 25- Tem piquete separado para fêmeas na fase de parto e/ou pós-parto? () não () sim 26- A quem entrega leite (apenas leite e mista)? () cooperativa () laticínio () direto ao consumidor () não entrega 27- Resfriamento do leite (apenas leite e mista): () não faz () faz Como: () em resfriador ou tanque de expansão próprio () em resfriador ou tanque de expansão coletivo 28- A entrega do leite é feita a granel (apenas leite e mista)? () não () sim 29- Produz queijo e/ou manteiga na propriedade? () não () sim Finalidade: () p/ consumo próprio () p/ venda 30- Consome leite cru? () não () sim 31- Tem assistência veterinária? () não () sim De que tipo? () veterinário da cooperativa () veterinário particular 32- Compartilha aguadas/bebedouros com animais de outra(s) propriedade(s)? () não () sim 33- Propriedade possui área para pouso de boiada em trânsito? () não () sim 34- Vacina contra brucelose é adequadamente conservada? () não () sim 35- Vacinação contra brucelose é corretamente executada? () não () sim 36- Nos últimos 12 meses comprou bovinos/bubalinos? Número de animais:.....; de quantas fazendas:..... 37- Nos últimos 12 meses vendeu bovinos/bubalinos? Número de animais:.....; para quantas fazendas:..... 38- Classificação da propriedade? () rural clássica () aldeia indígena () assentamento () periferia urbana																		
NOME DO VETERINÁRIO _____												ASSINATURA _____						

39 – INFORMAÇÕES SOBRE AS AMOSTRAS COLHIDAS										40 RESULTADOS LABORATORIAIS				
Nº	NUMERO DO FRASCO Cód. prop. no estudo + Nº sequencial (12 dígitos)	Espécie 1: bov 2: bub	Idade em anos	Nº de parições	Já abortou?		VACINAS				AAT P ou N	2ME P, N ou I	FC P ou N	RESULTADO FINAL P, N ou I
					SIM	NAO	BRU	LEP	IBR	BVD				
1														
2														
3														
4														
5														
6														
7														
8														
9														
10														
11														
12														
13														
14														
15														

Códigos e instruções para preenchimento desta tabela

(1) Bovino = 1; Bubalino = 2; (2) Marcar com X nas vacinas utilizadas (Bru = Brucelose; Lep = Leptospirose; IBR = Rinotraqueíte infecciosa bovina; BVD = Diarréia viral dos bovinos)
 (3) O resultado do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) pode ser : sem aglutinação (N) ou com aglutinação (P); os soros P ao AAT serão submetidos às provas confirmatórias 2-ME ou FC. O teste 2ME pode resultar Negativo (N), Inconclusivo (I) ou Positivo (P), de acordo com a tabela de interpretação oficial, que consta do Capítulo VI, do Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal. O teste Fixação do Complemento (FC) pode resultar Negativo (N) ou Positivo (P)

41 - RESULTADO FINAL – CLASSIFICAÇÃO DA PROPRIEDADE: () NEGATIVA () POSITIVA () INCONCLUSIVA

