



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CCA**  
**CURSO DE MESTRADO EM DEFESA SANITÁRIA ANIMAL**



**BRUCELOSE: FREQUÊNCIA, GEORREFERENCIAMENTO DE FOCOS,  
FATORES DE RISCO EM REBANHOS BOVINOS E EM SERES HUMANOS  
ENVOLVIDOS NA CADEIA PRODUTIVA DO LEITE NA REGIÃO DO MÉDIO  
MEARIM, MARANHÃO, BRASIL.**

**ROBERT FERREIRA BARROSO DE CARVALHO**

São Luís – MA

2014

**ROBERT FERREIRA BARROSO DE CARVALHO**

**BRUCELOSE: FREQUÊNCIA, GEORREFERENCIAMENTO DE FOCOS,  
FATORES DE RISCO EM REBANHOS BOVINOS E EM SERES HUMANOS  
ENVOLVIDOS NA CADEIA PRODUTIVA DO LEITE NA REGIÃO DO MÉDIO  
MEARIM, MARANHÃO, BRASIL.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Animal da Universidade Estadual do Maranhão para obtenção do grau de mestre em Defesa Sanitária Animal.

**Área:** Medicina Veterinária Preventiva.

**Orientador:** Profa. Dra. Lúcia Maria Coêlho Alves

São Luís – MA

2014

Carvalho, Robert Ferreira Barroso de.

“Brucelose: frequência, georreferenciamento de focos, fatores de risco em rebanhos bovinos e em seres humanos envolvidos na cadeia produtiva do leite na região do Médio Mearim, Maranhão, Brasil” / Robert Ferreira Barroso de Carvalho. – São Luís, 2014.

105 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Defesa Sanitária Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2014.

Orientador: Profa. Dra. Lúcia Maria Coelho Alves

1.Zoonose. 2.Aborto. 3.Doença Ocupacional. I.Título

CDU: 636.2:616.993 (812.1)

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2014  
pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

---

Prof. DSc. Hamilton Pereira Santos – UEMA

**1º membro**

---

Prof. DSc. Helder de Moraes Pereira – UEMA

**2º membro**

---

Profa. DSc. Lúcia Maria Coêlho Alves – UEMA

**Orientadora**

“A melhor maneira que o homem dispõe para se aperfeiçoar é aproximar-se de Deus”.

*(Pitágoras)*

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Pedro Barroso de Carvalho Neto (*In memoriam*) e Maria do Perpétuo Socorro Ferreira de Carvalho, pelo esforço, dedicação e educação ensinada aos filhos.

Aos meus filhos Pedro Guilherme Brito Barroso de Carvalho, Robert Ferreira Barroso de Carvalho Júnior e Thyliciana Maria Brito Barroso de Carvalho. Amarei vocês por toda minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ter-me dado oportunidade de alcançar mais um objetivo na minha vida.

A minha Orientadora Prof. Dr<sup>a</sup>. Lúcia Maria Coelho Alves pela confiança e orientação.

Ao Prof. Dr. Hamilton Pereira Santos pelo acolhimento no Laboratório de Doenças Infecciosas, disponibilidade em sempre ajudar e amizade durante toda minha vida profissional.

Ao Diretor Geral da AGED/MA, Dr. Fernando Luís Mendonça Lima pela liberação para realização deste mestrado.

A Diretora de Defesa e Inspeção Sanitária da AGED/MA, Dr<sup>a</sup> Margarida Paula Carreira de Sá Prazeres pelo apoio, incentivo e ajuda nos momentos difíceis.

Aos Professores Dr<sup>a</sup> Francisca Neide Costa e Dr. Daniel Prazeres Chaves pelo esforço e empenho para concretização do Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Animal.

A todos os professores do mestrado, em especial, Prof. Dr. Luís Antonio Mathias pela receptividade e realização dos exames na UNESP.

Ao prof. Dr. Luís Carlos Rêgo de Oliveira pela amizade durante todos estes anos.

Ao irmão e amigo de fé Dr. Wilson Martins Filho (in memoriam).

Aos professores Dr. Helder de Moraes Pereira e Dr. Ferdinan Almeida Melo pela amizade construída no decorrer do mestrado.

Às Dra. Nancylene Chaves Pinto e Dra. Elaine Cristina Batista dos Santos pelas valiosas colaborações.

A todos os colegas do mestrado, em especial, Valter Marchão Costa Filho pela amizade e Adriana Prazeres Paixão pelo apoio e ajuda durante as coletas e no laboratório.

Aos colegas do grupo de estudo em Ruminantes: Emerson, Glenda, Diego e Priscila pela disposição em contribuir.

A todos os servidores da Unidade Regional da AGED/MA de Pedreiras pela compreensão dos momentos ausentes do trabalho.

Aos Fiscais Federais Agropecuários José Cláudio Araújo Ferreira e Roberto Carlos Negreiros de Arruda pelas sugestões valiosas na colaboração deste trabalho.

A todos os criadores que aceitaram em ceder seus animais para realização do presente trabalho.

Aos ordenhadores das propriedades amostradas que entenderam a importância desta pesquisa e voluntariamente concordaram em colaborar com o estudo.

A Elane da Silva Plácido pela amizade e formatação deste trabalho e a Luciana da Silva Bastos pela valiosa ajuda no preenchimento dos formulários e impressão.

A todos os servidores do Curso de Medicina Veterinária e do Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Animal.

Ao Fundo de Desenvolvimento da Pecuária do Estado do Maranhão, na pessoa do Dr. Osvaldo Serra Pinto.

Muito Obrigado!

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	viii
LISTA DE QUADROS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	x
LISTA DE SIGLAS .....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT .....	xiii
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
2.1 Geral.....	17
2.2 Específicos .....	17
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>18</b>
3.1 Histórico .....	18
3.1.1 Histórico no Brasil .....	20
3.2 Etiologia e Hospedeiros Suscetíveis .....	21
3.3. Atualidades taxonômicas .....	23
3.4 Brucelose no Mundo .....	24
3.5 Brucelose no Brasil .....	26
3.6 Brucelose no Estado do Maranhão .....	32
3.7 Epidemiologia e Transmissão .....	34
3.7.1 Fatores de Risco .....	36
3.8 Patogenia .....	37
3.9 Sinais Clínicos e Lesões .....	39
3.10 Imunidade.....	41
3.11 Diagnóstico.....	43
3.11.1 Métodos Diretos .....	43
3.11.2 Métodos Indiretos ou sorológicos.....	44
3.12 Prevenção e Controle.....	49
3.13 Importância para Saúde Pública .....	50
3.14 Perdas Econômicas .....	51
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>53</b>
4.1 Área de estudo .....	53
4.2 População estudada.....	54

4.3 Amostragem .....	54
4.3.1 Seleção dos Animais .....	55
4.3.2 Identificação das propriedades.....	56
4.4 Colheita das amostras.....	56
4.4.1 Amostras animais .....	56
4.4.2 Amostras humanas .....	57
4.5 Testes diagnósticos.....	57
4.6 Questionário .....	58
4.7 Processamento de dados.....	59
4.8 Análise Estatística .....	59
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>60</b>
5.1 Frequência de brucelose em animais e rebanhos.....	60
5.2 Frequência de brucelose em ordenhadores .....	64
5.3 Fatores de risco associados à infecção da brucelose .....	65
5.4 Comparação dos testes confirmatórios .....	77
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>79</b>
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>80</b>
REFERÊNCIAS	
ANEXO	
APÊNDICES	

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b> Municípios, distribuição de rebanhos e amostras de soro colhidas para diagnóstico de brucelose bovina na Regional de Pedreiras - MA, 2014 .....	56
<b>Tabela 2.</b> Frequência de bovinos reagentes para brucelose nos testes AAT, 2-ME e TPF, por município da Regional de Pedreiras, MA, 2014 .....	60
<b>Tabela 3.</b> Frequência de foco de brucelose de acordo com os testes 2-ME e TPF, em rebanhos leiteiros dos municípios da Regional de Pedreira, MA, 2014 .....	61
<b>Tabela 4.</b> Hemossoros dos ordenhadores reagentes ao 2-ME na Regional de Pedreiras, MA, 2014.....	64
<b>Tabela 5.</b> Variáveis qualitativas analisadas no estudo de fatores de risco para brucelose bovina na Regional de Pedreiras/MA,2014.....	65
<b>Tabela 6.</b> Modelo de regressão logística univariada dos fatores de risco mais associados à ocorrência de foco de brucelose bovina nas propriedades rurais amostradas na Regional de Pedreiras, MA, 2014 .....	67
<b>Tabela 7.</b> Análise multivariada dos fatores de risco para ocorrência de foco de brucelose bovina nas propriedades rurais estudadas na Regional de Pedreiras, MA, 2014 .....	67
<b>Tabela 8.</b> Eficácia dos testes confirmatórios TPF e 2-ME usados para pesquisa de aglutininas anti- <i>Brucella abortus</i> em soros bovinos leiteiros na regional de Pedreiras, MA, 2014.....	78

## LISTA DE QUADROS

**Quadro I.** Principais espécies de *Brucella* spp e seus hospedeiros preferenciais .....23

**LISTA DE FIGURAS****p**

- Figura 1.**Total de perdas econômicas estimadas devido a brucelose bovina por estado no Brasil..... 52
- Figura 2.** Mapa dos municípios amostrados na Regional de Pedreiras- MA, 2014 ....53
- Figura 3** Distribuição espacial das propriedades foco de brucelose, de acordo com o teste 2-ME, em rebanho leiteiro dos municípios da Regional de Pedreira, MA, 2014 .62
- Figura 4.** Distribuição espacial das propriedades foco de brucelose, de acordo com o teste TPF, em rebanho leiteiro dos municípios da Regional de Pedreira, MA, 2014..63

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AGED/MA - Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão

AAT - Teste Antígeno Acidificado Tamponado

EAC - Escritório de Atendimento a Comunidade

EMBRAPA-Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias

G - Força real de centrifugação

GPS - Sistema de Posicionamento Global

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

IC - Intervalo de Confiança

IgG - Imunoglobulina da Classe G.

IgM - Imunoglobulina da Classe M.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

mP - Milipolarização

OIE - Organização Mundial de Saúde Animal

OR - *Odds Ration*

PNCEBT - Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose.

PCR - Teste de Reação em Cadeia da Polimerase

P - Probabilidade de ocorrência ao acaso

SAL - Teste de Soroaglutinação Lenta em Tubos

TPF - Teste de Polarização Fluorescente

UR - Unidade Regional

UVL - Unidade Veterinária Local

2-ME - Teste 2 – Mercaptoetanol

$\geq$  - Igual ou superior a

$>$  - Superior a

% - Porcentagem

CARVALHO, R.F.B de. Brucelose: frequência, georreferenciamento de focos, fatores de risco em rebanhos bovinos e em seres humanos envolvidos na cadeia produtiva do leite na Região do Médio Mearim, Maranhão, Brasil. [Brucellosis: prevalence, georeferencing foci of risk factors in dairy livestock and humans involved in the production chain of milk in the middle region Mearim, Maranhão, Brasil]. 2014. 105 f. Dissertação (Mestrado em Defesa Sanitária Animal) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2014.

## RESUMO

Brucelose é uma doença infectocontagiosa crônica cosmopolita, que acomete os animais domésticos, silvestres, mamíferos marinhos e o homem. Ocasiona perdas econômicas produtivas e reprodutivas. É considerada uma zoonose com sérios agravos para a saúde da população. A pesquisa teve por objetivo estimar a frequência da brucelose bovina e humana na Região do Médio Mearim, Maranhão. Foram selecionados, no período de maio a outubro de 2013, bovinos com aptidão leiteira, não vacinados contra brucelose, de ambos os sexos, com idade superior a 13 meses pertencentes a 35 propriedades cadastradas na AGED-MA, de 7 municípios da Regional de Pedreiras, cujos proprietários aceitaram participar livremente do estudo. Em cada propriedade foram selecionados de forma aleatória simples 15 bovinos totalizando 525 amostras. Também foram colhidos hemossoros de 60 ordenhadores e aplicou-se questionário epidemiológico para investigar fatores que poderiam estar associados à infecção. Para diagnóstico adotou-se o teste de triagem com Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), seguido dos testes confirmatórios de 2-Mercaptoetanol (2-ME) e Teste de Polarização Fluorescente (TPF). Das 525 amostras bovinas examinadas, verificou-se que a frequência de animais soropositivos foi de 26/535 (4,95%) no teste AAT, 17/525 (3,23%) e 13/525 (2,47%) nos testes de 2-ME e TPF, respectivamente. A frequência de rebanhos focos, com pelo menos um animal soropositivo, nos testes confirmatórios foi de 9/35 (25,71%) e 8/35 (22,85%), respectivamente. Dos hemossoros humanos 1/60 (1,66%) foi reagente no teste de 2-ME. As variáveis que apresentaram  $p < 0,20$  na análise univariada e  $p < 0,05$  na análise multivariada, no modelo de regressão logística foram consideradas epidemiologicamente relevantes para ocorrência da brucelose. Assim, constatou-se que a presença de ovinos (OR = 6,66, IC 95% = [1,26- 35,03]); compras de animais para reprodução (OR = 4,08, IC 95% = [0,70-23,50]) e ocorrência de abortos nos últimos doze meses (OR = 2,81, IC 95% = [0,59- 13,33]) foram fatores de risco. Enquanto que a presença de piquete maternidade (OR = 0,26, IC 95% = [0,04- 1,63]) foi um fator protetor. Comparando a eficácia dos testes confirmatórios TPF com 2-ME pode-se afirmar que houve boa concordância entre ambos ( $K = 0,69$ ), com sensibilidade e especificidade de 76,47% e 100%, respectivamente. O estudo espacial demonstrou que a brucelose está amplamente disseminada no rebanho leiteiro da regional estudada. Esses achados indicam a necessidade de melhorias nas ações de controle e erradicação da brucelose, tais como: realização de exames sorológicos, identificação e eliminação de animais reagentes, aumento da taxa de cobertura vacinal, estimular a adesão de criadores para certificação de propriedades livres ou monitoradas para brucelose e educação sanitária.

**Palavras-chaves:** *Brucella abortus*. Zoonose. Aborto. Doença ocupacional. Bursite. Maranhão.

CARVALHO, R.F.B de. Brucellosis: prevalence, georeferencing foci of risk factors in dairy livestock and humans involved in the production chain of milk in the middle region Mearim, Maranhão, Brasil. [Brucelose: frequência, georreferenciamento de focos, fatores de risco em rebanhos bovinos leiteiros e em seres humanos envolvidos na cadeia produtiva do leite na Região do Médio Mearim, Maranhão, Brasil]. 2014. 105 f. Dissertação (Mestrado em Defesa Sanitária Animal) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2014.

## ABSTRACT

The Brucellosis is a cosmopolitan chronic infectious disease that affects domestic animals, wildlife, marine mammals and the man. The Brucelose incurs productive and reproductive economic losses. It is considered a zoonosis with serious injuries to the health of the population. Ahead of the displayed one, the research had for aim to estimate the prevalence of the brucelose in milky flocks and involved human beings in the productive milk chain in the Region of the Mearim Midfielder, Maranhão. They were selected, of simple random form, samples of blood of 15 bovines pertaining to 35 properties in 7 cities of the Regional of Pedreiras. During the harvest a Epidemiological questionnaire was applied to research factors that could be associates to the infection. Also Blood samples of 60 milkers of the selected properties were collected. For Diagnostic was adopted the screening test with Buffered Acidified Antigen (AAT), followed by confirmatory testing of 2-Mercaptoethanol (2-ME) and Fluorescent Polarization Test (FPT). For Diagnostic was adopted the screening test with Buffered Acidified Antigen (AAT), followed by confirmatory testing of 2-Mercaptoethanol (2-ME) and Fluorescent Polarization Test (FPT). Of the 525 examined cattle samples, it was verified that the prevalence of positive animals was of 17/5253(23%) and 13/5252(47%), in the tests of 2 ME and TPF, respectively. The prevalence of focos flocks, with at least a positive animal, in confirmatory tests described above, was of 9/35(25.71%) e 8/35 (22.85%), respectively. Of hemossoros humanos 1/60. (1.66%) was positive in variable 2 - ME. As to submit  $p < 0.20$  in the univariate analysis were considered epidemiologically relevant for the occurrence of brucellosis. Thus, it was contacted that the presence of sheeps (OR = 6,66, IC 95%= [1,26 - 35,03]); purchases of animals for reproduction (OR = 4,08, IC 95%= [0,70- 23,50]) and occurrence of abortions in the last twelve months (OR = 2.81, IC 95%= [0,59 - 13,33] were risk factors. While the presence of picket maternity (OR = 0,26, 95% CI = [0.04 to 1.63]) was a protective factor. The spatial study showed that brucellosis is widespread in the regional dairy herd studied. These findings indicate the need for improvements in the brucellosis eradication and control actions, such as serological tests, identification and elimination of reactor animals, increases of fee of vaccine covering rage, supporting adherence of creators to accreditation of free or monitored properties and health education.

**Keywords:** *Brucella abortus*. Zoonosis. Abortion. Occupational disease. Bursitis. Maranhão.

## 1 INTRODUÇÃO

Brucelose é uma doença infectocontagiosa crônica causada pela bactéria *Brucella spp*, que acomete todas as espécies domésticas, silvestres e o homem. Causa notórias perdas econômicas e sociais ao sistema produtivo além de ocasionar sérios agravos à saúde da população.

As *Brucella spp* não são hospedeiro-específicas e em determinadas condições podem transmitir-se a outras espécies animais. As espécies mais importantes para a pecuária nacional são: *B.abortus* (biovariedades 1-6,9) que infectam bovinos e bubalinos, assim como o homem; é a que causa mais prejuízos à bovinocultura do país, em função do tamanho do rebanho e de áreas com altas prevalências. *B.melitensis* (biovariedades 1- 3) infectam caprinos e ovinos e é a mais patogênica para o homem, contudo esta espécie bacteriana nunca foi relatada no Brasil. *B.suis* (biovariedades 1-5) infectam primariamente suínos, está presente no Brasil, mas com uma prevalência muito baixa. *B.canis* também é patogênica para o homem e está bastante difundida no Brasil, especialmente nas grandes cidades. *B. ovis* (ovinos) presente no Brasil e a *B. neotomae* (rato do deserto) não encontrada no Brasil e não são patogênicas para o homem. Quanto às espécies marinhas, há poucos registros de infecções humanas, na maioria dos casos ocasionada por acidentes em laboratórios (POESTER, 2010). De todas as espécies do gênero *Brucella*, quatro podem transmitir-se dos animais ao homem, sendo rara a transmissão entre pessoas. Embora foram identificados casos de transmissão sexual, intra-uterina e por aleitamento materno (PESSEGUEIRO et al., 2003).

As *Brucella spp* possuem grande afinidade pela placenta, o que leva à ocorrência de placentite, morte fetal e aborto. Em fêmeas gestantes, a infecção fetal ocorre após a multiplicação da bactéria nas células trofoblásticas, a qual leva à necrose destas células, vasculite, separação da placenta materna e fetal, e ulceração da membrana corioalantóide. A afinidade pelo trofoblasto parece estar relacionada à presença na placenta de elevadas concentrações de eritritol (açúcar que favorece a multiplicação bacteriana) e progesterona (PAULIM, 2003).

A doença no rebanho ocorre primariamente pela ingestão de materiais contaminados, mas também pela introdução de animais assintomáticos cronicamente infectados, infecções congênitas (*in útero*) ou perinatais originando

infecções latentes, assim como por infecções venéreas, principalmente na espécie suína. Em países em desenvolvimento a doença é particularmente relevante considerando-se os muitos entraves na produção animal e as condições em que os produtos de origem animal são processados e comercializados. As perdas advindas da infecção por *B. abortus* estão relacionadas à baixa eficiência reprodutiva dos animais, com conseqüente diminuição da produção do rebanho. A ocorrência de abortos acarreta um aumento do intervalo entre partos que leva à diminuição da produção de leite. Associados aos abortos, a alta frequência de natimortos e bezerros nascidos debilitados, que geralmente morrem ou têm seu crescimento prejudicado, esses entraves reduzem o número de animais para comercialização. Por outro lado, estima-se que a diminuição da produção de carne e leite seja da ordem de 25% e que o decréscimo da produção de bezerros seja da ordem de 15% (BERNUÉS et al.,1997; MIRANDA et al., 2008). Segundo a IN 50/2013 (BRASIL, 2013) é uma doença de notificação obrigatória imediata de qualquer caso confirmado ao sistema veterinário oficial.

Segundo Santos et al. (2013), a cada 1% de variação na prevalência de brucelose no Brasil estima-se 155 milhões de reais de custo na doença. Estas perdas econômicas comprometem mais de 0,3% do PIB brasileiro gerado por animais de produção, o que é altamente significativo levando-se em conta que atualmente o Brasil é detentor do maior rebanho bovino comercial do mundo, e o país é um dos principais exportadores de carne bovina, além das barreiras sanitárias internacionais ao comércio de produtos de origem animal e perdas na indústria.

De acordo com o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) são aceitos hoje como testes oficiais de triagem, para diagnóstico de brucelose, o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e o teste do Anel em Leite (TAL). Os soros dos animais com resultado positivo no AAT devem ser submetidos aos testes confirmatórios do 2-Mercaptoetanol (2ME) e/ou Fixação do Complemento (FC). Também os resultados positivos no teste do anel devem ser investigados por testes sorológicos (BRASIL, 2004).

Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, o Brasil é um dos principais países produtores de leite e ocupa a 5ª posição com 31.667.600 toneladas da produção mundial na classificação global dos principais países produtores de leite (EMBRAPA, 2012). No ranking de produção de leite no Brasil, a Unidade

Federativa do Maranhão ocupa o 16º lugar produzindo 336 milhões de litros por ano, 642 litros/vaca e 55 litros por habitante (IBGE, 2012). Um fato histórico e de suma importância foi a criação da Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão pela Lei Nº 7.734 de 19 de abril de 2002. E publicações das Portarias Nº 038, de 03 de março de 2008 (Instituiu no Estado do Maranhão a vacinação contra brucelose para fêmeas das espécies bovinas e bubalinas) e a de Nº 014, de 19 de janeiro de 2010 (Disciplina o trânsito de bovinos e bubalinos em relação à vacinação contra brucelose em todo território maranhense).

De acordo com a Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED-MA, 2013), o estado faz parte do Circuito Pecuário Nordeste, está classificado como Zona Livre de Febre Aftosa com vacinação, possui o segundo rebanho bovino do nordeste, com 7.309.601 animais (superado apenas pelo Estado da Bahia). E o maior rebanho bubalino com 79.249 búfalos; totalizando um rebanho bovínico de 7.388.850 animais, sendo detentor do 12º rebanho do país. A AGED possui uma capilaridade formada por 01 Unidade Central e 18 Unidades Regionais (ANEXO A).

A Regional de Pedreiras está localizada na região do Médio Mearim, é composta pelos municípios de: Lima Campos, Pedreiras, Trizidela do Vale, Bernardo do Mearim, Igarapé Grande, Poção de Pedras, Esperantinópolis, São Roberto, São Raimundo do Doca Bezerra, Lago dos Rodrigues, Lago do Junco, Lago da Pedra, Lagoa Grande do Maranhão, Paulo Ramos e Marajá do Sena, ocupando uma área de 7.738 km<sup>2</sup>, população de 237.363 habitantes (IBGE, 2012) e um rebanho bovínico de 410.120 cabeças, distribuídos em 4.933 propriedades, com uma vocação natural para produção leiteira (ANEXO C). É a 3ª Bacia Leiteira do Estado do Maranhão, superada pelas Bacias Leiteira de Açailândia (289.368 L/dia) e Imperatriz (95.057 L/dia), 1ª e 2ª Bacias Leiteiras do Estado, respectivamente.

Diante deste contexto e devido à inexistência de estudos científicos sobre a frequência da brucelose em rebanhos leiteiros e em humanos na regional de Pedreiras, o presente trabalho se propôs a alcançar os objetivos apresentados a seguir:

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

- Realizar estudo para estimar a frequência da brucelose, o georreferenciamento de focos e de fatores de risco em rebanhos bovinos e em seres humanos envolvidos na cadeia produtiva do leite na Regional de Pedreiras-MA, Brasil.

### 2.2 Específicos

- Detectar anticorpos e conhecer a frequência da brucelose em rebanhos bovinos leiteiros nos municípios da regional de Pedreiras, MA;
- Diagnosticar aglutininas anti-*Brucella* em grupo ocupacional de ordenhadores;
- Identificar fatores de risco associados à transmissão da infecção por *B. abortus* em bovinos e em ordenhadores nas propriedades amostradas;
- Realizar estudo espacial através do georreferenciamento dos rebanhos foco para brucelose bovina.
- Comparar se existe concordância de diagnóstico entre o Teste 2-Mercaptoetanol e Polarização Fluorescente.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Histórico

A história da brucelose parece estar ligada a própria história da medicina. Pacheco & Mello dividem-na em três períodos: o 1º desde Hipócrates (460 a.C), o 2º com Bruce & Bang e o 3º a partir de Alice Evans até hoje (REIS, 1977).

Pesquisas em escavações arqueológicas, realizadas na Itália, revelaram que esqueletos de habitantes adultos das cidades de Herculano e Pompéia, destruídas pela catástrofe do vulcão Vesúvio ocorrido no ano 79 d.C apresentavam lesões ósseas (espondilite) típicas de brucelose. Estudo este proporcionado pela microscopia eletrônica que demonstrou a presença de cocobacilos compatíveis com *Brucella* em queijos produzidos com leite de cabras e que foram achados carbonizados em escavações naquelas cidades (CAPASSO, 2002).

Em 1886, o capitão David Bruce, médico inglês, foi enviado à ilha de Malta para estudar uma doença febril que acometia os soldados ingleses que ali residiam. Em 1887, Dr. Bruce, mediante culturas, isolou uma bactéria em amostras de baço de militares ingleses que morreram desta enfermidade, chamada febre de Malta, nas costas do Mediterrâneo, sendo o agente denominado *Micrococcus melitensis* (GODFROID et al., 2005). Em 1905 Zammit demonstrou, ainda em Malta, a natureza zoonótica da *B.melitensis* por meio do isolamento da bactéria, do leite de cabras (NICOLETI et al., 2002).

Em 1897, Bernard Bang & Stribolt, veterinários dinamarqueses isolaram de um feto bovino abortado, uma bactéria que foi denominada inicialmente de *Bacillus abortus* e, mais tarde, foi conhecida como *Brucella abortus* (NICOLETI et al., 2002).

Esses micro-organismos posteriormente foram renomeados para *Brucella melitensis*, em homenagem ao seu descobridor (LEON, 1994).

De acordo com Gomes (2014), de 1914 a 1994 inúmeras pesquisas científicas sobre brucelose foram realizadas, destacando-se:

Em 1914, Jacob Traum isolou *B. suis* de um leitão abortado.

Em 1918, Alice Evans, pesquisadora norte-americana publicou um trabalho importante para o conhecimento da brucelose demonstrando as semelhanças morfológicas, imunológicas e de cultivo entre as bactérias isoladas por Bruce &

Bang. Em razão disto, Meyer & Shaw propuseram em 1920, a criação do gênero *Brucella*, em homenagem ao autor do primeiro isolamento do agente.

Em 1953, Buddle & Boyes, na Nova Zelândia, isolaram um micro-organismo com características semelhantes ao gênero *Brucella* spp de ovinos com alterações genitais.

Em 1956, Simmons & Hall, na Austrália, isolaram de carneiros com epididimite um micro-organismo idêntico ao isolado na Nova Zelândia.

Em 1957, Stoenner & Lachman, nos Estados Unidos, isolaram a *B. neotomae* de um roedor do deserto de Utah denominado *Neotoma lepida*.

Em 1968, Liland Carmichael, nos Estados Unidos, isolou a *B. canis* que posteriormente foi descrita por Carmichael, em 1969.

Em 1994, Ross et al., na Escócia, isolaram e identificaram de penípedes (focas) uma nova espécie do gênero *Brucella*.

Também em 1994, Ewalt et al., nos Estados Unidos, isolaram *Brucella* de um cetáceo (golfinho) capturado que, mais tarde foi designada de *B. ceti* (FOSTER et al., 2007). Segundo os autores *B. pinnipedialis* e *B. ceti* são patogênicas para mamíferos marinhos. Já foram associadas à granulomas intracerebrais em pacientes com neurobrucelose (SOHN et al., 2003), com osteomielite da coluna vertebral (MACDONALD et al., 2006) e a acidentes laboratoriais (BREW et al., 1999).

Em 2007, os novos isolados foram incluídos no gênero *Brucella* como o nome de *B. pinnipedialis* (FOSTER et al., 2007).

Em 2008, Barun Kumar De et al., nos Estados Unidos (Oregon), descreveram as características microbiológicas, bioquímicas e moleculares de uma cepa/linhagem de *Brucella* incomum (BO<sub>1</sub>) isolada de uma prótese de seio (silicone) de uma senhora com 71 anos de idade com sinais clínicos compatíveis com brucelose. As análises laboratoriais iniciais sugeriram que o isolado era uma "*Brucella like organism*", porém a determinação da espécie, através de dados moleculares baseados no sequenciamento do 16S rARN e na análise sequencial multilocus demonstraram que a referida linhagem era uma cepa incomum, atípica e nova de *Brucella*, pois não está relacionada as atuais espécies descritas.

Em 2010 esta linhagem foi incluída na "*List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature*" com a denominação de *B. inopinata* (Brucela não esperada).

Tilleret al., em 2010, descreveram o isolamento e identificação de uma bactéria incomum, Gram negativa, imóvel “*Brucella like organism*” (BO<sub>2</sub>) isolada de uma biópsia de pulmão de um homem com pneumonia crônica, com 52 anos de idade, na Austrália. As características bioquímicas e moleculares da amostra BO<sub>2</sub> demonstraram similaridade com a amostra BO<sub>1</sub> descrita como *B. inopinata* (GOMES, 2014).

### 3.1.1 Histórico no Brasil

Em 1913, Gonçalves Carneiro relatou pela primeira vez, um caso de brucelose humana no Brasil (POESTER et al., 2002). Em 1914, Danton Seixas, no Rio Grande do Sul, diagnosticou clinicamente o primeiro caso de brucelose bovina. Três anos depois, Thomaz Pompeu Sobrinho, no Ceará, observou casos raros de abortamento bovino, comum em equinos e frequentes em ovinos, sem verificar um padrão de ocorrência epidêmica. Tineciro Icibaci, em 1922, realizou o primeiro estudo sobre brucelose bovina no Brasil, através de pesquisas epidemiológicas e exames microscópicos de amostras provenientes de fetos abortados, onde descreveu um foco ocorrido no Município de São Carlos – SP (BOLETIM, 1988).

Em 1928, Mello & Neiva isolaram *B. abortus* do sangue de uma vaca que tinha abortado. Também Silvio Torres, em 1931, constatou a presença de 08 animais soropositivos para brucelose e 19 suspeitos provenientes de um lote de 51 bovinos importados. Como consequência, César Pinto, em 1933, propôs a implantação de protocolo de testes em animais importados visando impedir a disseminação da doença no Brasil (BOLETIM, 1988).

Desidério Finamor, em 1936, detectou pela primeira vez no Rio Grande do Sul a brucelose bovina através de exame sorológico e propôs medidas para seu controle (PAULIM & FERREIRA NETO, 2002).

Em 1950, Thiago de Mello relatou uma prevalência da brucelose bovina em todo o país variando entre 10 a 20%, sendo que os índices mais altos estavam nas regiões leiteiras do Rio Grande do Sul, São Paulo e Minas Gerais (GARCIA-CARRILLO, 1987).

Giorgi et al., em 1972, estudaram cepas de *B. abortus* no Estado de São Paulo e caracterizaram sete como pertencentes ao biovar 1 e nove ao biovar 2.

Langenegger et al.,(1973) no Estado do Rio de Janeiro caracterizaram quatro cepas pertencentes ao biovar 1 e seis ao biovar 3.

A brucelose bovina causada pela *B. abortus* é a mais prevalente das infecções brucélicas no Brasil, seguida da *B. suis* em suínos. A *B. melitensis* e a *B. neotomae* não foram isoladas/identificadas no país (POESTER et al., 2002). Assim como *B. ceti*, *B. microti*, *B. pinnipedialis* e *B. inopinata*, até o presente momento não há relato dessas espécies no Brasil (GOMES, 2014)

A brucelose é também conhecida nos animais por Doença de Bang, Aborto Contagioso, Aborto Infecioso, Aborto Enzoótico e "*Slinking of The Calf*". No homem, a doença é designada de Febre Ondulante, Febre de Malta ou do Mediterrâneo, Febre Maltesa, Febre de Gibraltar (GOMES, 2014).

### 3.2 Etiologia e Hospedeiros Suscetíveis

A brucelose é causada por bactérias Gram negativas do gênero *Brucella*, que são coccobacilos intracelular facultativo, medindo 0,5 a 0,7 por 0,6 a 1,5 $\mu$ m., imóvel, não flagelado, aeróbio ou microaerófilos, acapsulado, não formam esporos e não se multiplicam no meio ambiente. Possui morfologia colonial lisa ou rugosa (rugosa estrita ou mucóide) em cultivos primários. Essa morfologia está diretamente ligada à composição bioquímica do lipopolissacarídeo (LPS) da parede celular. Classicamente, as brucelas podem ser divididas em dois grupos antigênicamente distintos, denominadas lisas (*B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*) e rugosas (*B. ovis* e *B. canis*). As "brucelas clássicas ou lisas" foram divididas em biótipos (biovares), que demonstram diferenças quanto à predileção de espécies e/ou órgãos-alvo. A classificação dos diferentes biótipos é fundamentada no requerimento de CO<sub>2</sub>, na produção de H<sub>2</sub>S, no crescimento na presença dos corantes tionina e fucsina básica, na aglutinação com anti-soros mono específicos (A, M) e na lise por bacteriófagos. As cepas rugosas embora apresentem variantes não se subdividem em biótipos. A *B. melitensis* possui os biovares 1, 2 e 3; *B. abortus* possui sete biótipos 1-6, 9 e a estirpe vacinal B19; enquanto que as *B. suis* apresentam cinco biovares 1-5. Para algumas espécies existe relação com a virulência, quando evoluem de formas lisas para rugosas ou mucóides deixando de ser patogênicas e tornando-se menos eficientes no processo de invasão celular. A doença apresenta evolução crônica e se

caracteriza pela colonização das células do sistema mononuclear fagocitário (ACHA & SZYFRES, 2001; SANTOS et al., 2005; BRASIL, 2006; NIELSEN & DUNCAN, 1990 apud RIBEIRO et al., 2008; XAVIER, 2009).

A *Brucella abortus* tem como hospedeiro preferencial os bovinos, mas o micro-organismo pode ser transmitido para búfalos, camelos, veados, cães, cavalos, suínos, cabras, ovelhas e homem (XAVIER, 2009). No Brasil, a brucelose bovina causada por *B.abortus* é a mais prevalente infecção (POESTER et al., 2002).

O recente isolamento e a caracterização de espécies não clássicas de *Brucella* demonstram que ainda há muito a ser descoberto (XAVIER et al., 2009).

O gênero *Brucella spp* classicamente continha seis espécies, porém continua evoluindo e novas espécies foram incluídas (Quadro 1). Cada uma delas possui seu hospedeiro preferencial: *B. abortus* (bovinos); *B. melitensis* (caprinos e ovinos); *B. suis* (suínos); *B. canis* (caninos); *B. ovis* (ovinos); *B. neotomae* (rato do deserto, *Neotomae lepida*); *B. microti* (camundongo do campo, *Microtus arvalis*); *B. ceti* (cetáceos – golfinhos e baleias); *B. pinnipedialis* (penípedes - focas) e *B. inopinata* (homem). Todas são patogênicas para os animais domésticos e silvestres. Exceto a *B. neotomae* e *B. ovis*, todas as espécies são capazes de infectar o homem.

**Quadro I.** Principais espécies de *Brucella spp* e seus hospedeiros preferenciais

Espécie (s)	Hospedeiro Preferencial	Hospedeiros secundários
<i>B. abortus</i>	Bovinos	Caprinos, Suínos, Equinos, Ovinos
<i>B. ovis</i> (Epididimite) <i>B. melitensis</i> **	Ovinos	Bovinos
<i>B. melitensis</i> **	Caprinos	Bovinos
<i>B. suis</i>	Suínos	Bovinos, Caprinos, Equinos
<i>B. canis</i>	Caninos	Bovinos, Caprinos, Suínos
<i>B. abortus</i> <i>B. melitensis</i> ** <i>B. suis</i> <i>B. canis</i> <i>B. inopinata</i> **? <i>B. ceti</i> ** <i>B. pinnipedialis</i> **?	Homem	
<i>B. neotomae</i> **	Roedores ( <i>Neotomalepida</i> )	?
<i>B. microti</i> **	Camundongo campo ( <i>Microtus arvalis</i> )	?
<i>B. ceti</i> **	Cetáceos (golfinhos / baleias)	?
<i>B. pinnipedialis</i> **	Penípedis (focas)	?

\*\*Não isolada no Brasil (GOMES, 2014).

### 3.3 Atualidades taxonômicas

Na “*List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature*” organizada pelo pesquisador J.P. Euzéby, atualmente há citação de 10 espécies e nenhuma subespécie do gênero *Brucella*. São as seguintes espécies:

*Brucella melitensis* ( HUGHES 1893) (Espécie típica do gênero).

*Brucella abortus* ( SCHMIDT, 1901) (MEYER & SHAW 1920).

*Brucella suis* (HUDDLESON, 1929).

*Brucella ovis* ( BUDDLE, 1953).

*Brucella neotomae* (STOENNER & LACKMAN, 1957).

*Brucella canis* (CARMICHAEL & BRUNER, 1968).

*Brucella ceti* (FOSTER et al., 2007).

*Brucella pinnipedialis* (FOSTER et al., 2007).

*Brucella microti* (SCHOLZ et al., 2008).

*Brucella inopinata* (SCHOLZ et al., 2010).

### 3.4 Brucelose no Mundo

A brucelose é uma enfermidade cosmopolita, e em países em desenvolvimento a situação não é tão favorável, com variações de incidência e prevalência. O maior número de focos concentra-se na África, Ásia Ocidental, Mediterrâneo e na América, principalmente em países com grandes rebanhos bovinos, como México, Peru, Colômbia, Argentina e Brasil (CASTRO et al., 2005; RAMOS et al., 2008).

Alguns países tiveram êxito e a erradicaram, como Dinamarca, Suécia, Luxemburgo, Holanda, Áustria, Bélgica, Bulgária, Finlândia, Hungria, Suíça (ACHA & SZYFRES, 2001; POESTER et al., 2009). França, Grécia, Irlanda, Itália, Espanha e Portugal, embora não tenham sido declarados livres de brucelose bovina, estão em adiantada fase de erradicação (POESTER et al., 2009).

Os Estados Unidos iniciaram seu programa de controle em 1934, e como resultado, em dezembro de 2002 não havia mais registros de rebanhos afetados por brucelose no país (POESTER et al., 2009). No Oriente Médio, a brucelose foi diagnosticada em animais domésticos principalmente em bovinos, ovinos e caprinos. Existe casos em camelos na Arábia Saudita, Líbia, Kuwait, Omã, Iraque, Iran, Sudão, Egito, Somália e Emirados Árabes. Também existem casos em bubalinos, equinos e suínos, no Egito. Em humanos a maior incidência foi registrada na Arábia Saudita por *B. melitensis* (REFAI, 2002). Neste mesmo país Roth et al., (2003) observaram que 30% da população humana contraiu a enfermidade antes dos 15 anos de idade em virtude do consumo de leite cru. Na Jordânia, 33,2% dos abortos de ovelhas estão relacionados com esta enfermidade e 7% da população humana de risco (veterinários, pastores ou técnicos de laboratório) são reagentes para *Brucella* (AL-ANI, 2004).

A brucelose é uma doença de grande importância no continente Africano, entre os animais e o homem. Sua incidência é maior nas áreas de sistema de produção de pastoreio, onde a prevalência e os fatores de riscos são melhores compreendidos nos rebanhos bovinos, mas em humanos, a notificação é ignorada. Há preocupação dos órgãos de vigilância em implantarem políticas sanitárias no intuito de minimizar prejuízos futuros (MACDERMONTT & ARIMID, 2002).

Na Índia a brucelose é endêmica em todo o país. Existem relatos em bovinos, búfalos, caprinos, ovinos, suínos, cães e homem. A espécie mais prevalente é *B. abortus* Biovar 1 em bovinos e bubalinos, *B. melitensis* em caprinos. Os humanos são acometidos pelas duas espécies (RENUKARADHYA et al., 2002).

Na América Central, a enfermidade está presente nos animais domésticos e no homem. *B. abortus* e *B. suis* são as espécies mais prevalentes e estão distribuídas em todos os países, entretanto, a *B. ovis* e *B. melitensis* está presente somente na Guatemala. A prevalência gira em torno de 4 a 8% para a brucelose bovina, sendo mais elevada em rebanhos leiteiros. Programas sanitários têm sido utilizados objetivando a redução da prevalência visando à erradicação (MORENO, 2002).

Na América do Sul, a brucelose representa um agravo para a saúde pública. Na Venezuela, afeta um grande número de animais, cuja porcentagem de reagentes varia de 0,8 a 1,2%, embora em algumas partes do país apresente prevalência de 10,5% (VARGAS, 2002). *B. abortus* é a mais importante em bovinos e bubalinos e também como zoonose, provocando taxas de abortos em mulheres e infertilidade em homens representantes de grupos ocupacionais.

Na Argentina, diversos estudos demonstraram a presença da doença na maioria das espécies domésticas. A prevalência da *B. abortus* está entre 10 e 13% de foco e em animais soro-reagentes é de 4 a 5 %. A brucelose humana também é motivo de preocupação neste país (GIL & SAMARTINO, 2002). No Chile, como o rebanho leiteiro se concentra na região dos Lagos, o processo de erradicação iniciou-se por lá, onde são encontrados os maiores índices de animais infectados (RIVERA et al., 2002). No Paraguai, os estudos realizados em mais de 1,2 milhões de amostras oriundas de 50.718 rebanhos bovinos, analisadas no período de 20 anos, demonstram um percentual de 3 a 4% de rebanhos infectados (BAUMGARTEN, 2002).

### 3.5 Brucelose no Brasil

As primeiras propostas para controle da brucelose no Brasil datam da década de 1940-1950, cujas medidas resumiram-se ao exame sorológico de vacas que abortaram, na segregação dos reagentes e na vacinação com B19 (MENEZES, 1950; D'APICE, 1954).

Novas diretrizes nacionais foram propostas para fortalecer as medidas de controle, sobretudo a vacinação de todas as bezerras com B19 e criação de comitês de brucelose, com representantes governamentais das áreas de saúde pública e animal, produtores de leite e carne, organizações agropecuárias e comunicação em massa (VINHAS, 1958).

A partir de 1944 vários decretos foram sancionados pelo Ministério da Agricultura para controle da brucelose. Destacando-se entre eles a identificação de todos os animais vacinados com B19, as diretrizes para a importação e exportação de animais e a exigência de testes para o trânsito de animais ou da sua participação em feiras (LAGE et al., 2005).

Em 1975, foi realizado um diagnóstico da brucelose bovina em nível nacional com a prevalência de animais soropositivos em 4% na Região Sul; 7,5% na Região Sudeste; 6,8% na Região Centro-Oeste; 2,5% na Região Nordeste e 4,1% na Região Norte. Posteriormente outros inquéritos epidemiológicos foram realizados em alguns estados brasileiros. No Rio grande do Sul a prevalência baixou de 2 % , em 1975, para 0,3% em 1986. Santa Catarina passou de 0,2%, em 1975, para 0,6 em 1996. Mato Grosso do Sul apresentou 6,3%, em 1998, a mesma prevalência de 1975, no antigo Estado de Mato Grosso. Minas Gerais passou de 7, 6%, em 1975, para 6,7 em 1980. No Paraná a prevalência estimada de 1975 foi de 9,6%, baixando para 4,6% de bovinos soropositivos em 1989. Os dados de notificações oficiais indicavam que a prevalência de animais soropositivos no Brasil no período de 1988 a 1998 se mantiveram entre 4% e 5% (BRASIL, 2006).

A Portaria 23/1976 do Ministro da Agricultura propôs um programa nacional de controle da brucelose baseado na vacinação voluntária de bezerras com 3 e 8 meses de idade, teste para diagnóstico de rebanhos com animais infectados e sacrifício voluntário dos animais reagentes (BRASIL,1977). Programa não foi

implantado completamente e a situação epidemiológica permaneceu estável com altas prevalências da doença nas diversas regiões do Brasil (LAGE et al, 2005).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) ao verificar a ineficiência das medidas até então adotadas, instituiu no ano de 2001 o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT), mediante a Instrução Normativa Nº 2 de 10 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

Em 2004 foi aprovado o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (BRASIL, 2004).

O PNCEBT tem por objetivos diminuir a prevalência e a incidência da brucelose e tuberculose em rebanhos bovinos e bubalinos e possibilitar que um número elevado de propriedades rurais certificadas ofereça ao mercado consumidor produtos de baixo risco sanitário (POESTER et al, 2002; BRASIL, 2006; POESTER et al, 2009), permitindo que a pecuária nacional permaneça sendo mundialmente competitiva e gerando riquezas para o Brasil.

As estratégias do PNCEBT compreendem: vacinação compulsória de bezerras com idade entre 3 a 8 meses com a cepa B19; certificação voluntária de propriedades livres e monitoradas de acordo com as normas internacionais e esquema periódico de amostragem; controle do trânsito de animais destinados à reprodução e participação em feiras, exposições e leilões, a partir de exames diagnósticos; abate compulsório dos animais reagentes em estabelecimentos com inspeção oficial e padronização dos procedimentos de diagnóstico e testes a campo por meio de capacitação e habilitação de médicos veterinários para atuarem junto ao programa (POESTER et al, 2002; BRASIL, 2006).

Trata-se de um programa harmonizado com as condutas recomendadas pelos organismos internacionais e suficientemente flexíveis a ponto de permitir sua implementação nos heterogêneos estados brasileiros (BRASIL, 2006). Portanto, o PNCEBT veio preencher uma lacuna nas políticas de sanidade animal do Brasil (LAGE et al; 2005).

Devido à importância do PNCEBT tanto para a cadeia produtiva da carne quanto do leite, para a segurança dos consumidores de produtos de origem animal, e para a imagem que o País projeta no mercado internacional, além dos altos custos inerentes aos procedimentos para se atingirem os objetivos do programa, fez-se necessário um novo inquérito epidemiológico para elucidar a situação dessa

zoonose no rebanho bovino brasileiro, fornecer as melhores condutas e estratégias para os estados e regiões e criar um mecanismo de fiscalização da efetividade das ações implementadas (POESTER et al; 2009).

Este trabalho só foi possível devido um termo de cooperação técnica entre o MAPA, Universidade de São Paulo (USP) e Universidade de Brasília (UnB). Dessa forma, técnicos de cada Agência de Defesa Sanitária dos Estados realizaram estudo de caracterização epidemiológica da brucelose no Brasil, determinando a prevalência desta doença em bovinos e identificando os tipos de criação, práticas de manejo e fatores de risco que poderiam estar associados à presença da brucelose. Os trabalhos de campo foram realizados entre 2001 e 2004 nas seguintes Unidades Federativas: Bahia, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Rondônia, Santa Catarina, Sergipe, São Paulo e Tocantins. Mato grosso do Sul optou por aproveitar os resultados do trabalho de campo realizado em 1998 (POESTER et al., 2009).

O Estado da Bahia foi dividido em quatro circuitos produtores. As prevalências de focos e a de fêmeas adultas soropositivas nesse Estado foram de 4,2% [3,1-5,3%] e 0,66% [0,41-0,93%], respectivamente. Para os circuitos produtores, foram: circuito 1 (Sul), 5,75% [3,64-8,71%] e 0,86% [0,41-1,32%]; circuito 2 (Noroeste) 3,07% [1,48-5,56%] e 1,17 [0,25-2,09%]; circuito 3 (Nordeste), 6,31 [4,05-9,33%] e 1,66% [0,66-2,66%]; e circuito 4 (Centro), 0,60% [0,07- 2,16%]. Os fatores de risco (*Odds Ratio*, OR) associados aos focos foram compra de reprodutores (OR = 1,76) e presença de áreas alagadiças (OR = 1,76). Já a vacinação de fêmeas entre três e oito meses foi fator de proteção (OR = 0,53) (ALVES et al., 2009).

A prevalência no Distrito Federal foi de 2,5% [1,0-5,1%] para propriedades e de 0,6% [0,04-0,28%] para animais soropositivos (GONCALVES et al., 2009).

No Estado do Espírito Santo, dividido em dois circuitos produtores, as prevalências de focos e de animais infectados foram, respectivamente, no circuito 1, de 9,0% [7,0-11,6%] e 3,43% [1,33-8,57%]; no circuito 2, de 10,86% [7,86-10,21%] e 3,69% [2,13-6,33%]. Com relação ao Estado, foram, respectivamente, 9,00% [6,97-11,55%] e 3,53% [1,93-6,37%]. Como fatores de risco foram apontados inseminação artificial (OR = 7,05) e confinamento / semi confinamento (OR=2,98) dos animais. A vacinação de fêmeas entre três e oito meses de idade foi um fator protetor (OR = 0,03) (AZEVEDO et al., 2009).

Para o Estado de Goiás, dividido em três circuitos, as prevalências de focos de brucelose bovina e de bovinos soropositivos foram, respectivamente: circuito 1 (Norte) - 7,69% [4,67-10,71%] e 1,36% [0,99-1,73%]; circuito 2 (Sul) - 19,53% [15,02-24,04%] e 2,55% [2,03-3,07%]; circuito 3 - 21,04% [16,75-26,05%] e 4,33% [3,66-5,00%]; todo o Estado - 17,54% [14,91-20,17%] e 3,01% [2,69-3,33%]. O fator de risco evidenciado foi introdução de animais para reprodução sem a realização de testes (ROCHA al., 2009).

O Estado de Mato Grosso foi dividido em quatro circuitos produtores. As prevalências de focos e de animais soropositivos encontrados foram: circuito 1 (região do Pantanal) - 36,9% [29,2-45,2%] e 7,9% [3,0-12,9%]; circuito 2 (região de leite) - 27,2% [22,8-32,1%] e 4,1% [2,8-5,4%]; circuito 3 (região de engorda) - 40,4% [38,8-46,2%] e 8,1% [5,2-11,1%]; e circuito 4 (região de cria) - 41,2 [38,0-44,4%] e 10,2% [7,4- 13,1%]. Como fatores de risco foram identificados as variáveis: exploração para corte (OR = 1,8), exploração mista (OR = 1,8), propriedades de 11 a 50 fêmeas (OR = 4,8), propriedades com 51 ou mais fêmeas (OR = 6,8) e aborto (OR = 1,7) (NEGREIROS et al., 2009).

O Estado de Mato Grosso do Sul foi dividido em três estratos (regiões): Pantanal-corte, Planalto-corte e Planalto-leite, este último subdividido em Bolsão, Campo Grande e Dourados. Para o Estado, a prevalência de focos foi de 41,5% [36,5–44,7%]. As prevalências de focos e de animais infectados por estrato foram, respectivamente, de: 59,0% [52,8–64,9%] e 12,6% [9,1–17,2%] para o estrato Pantanal-corte, e 40,6% [35,8–45,5%] e 4,5% [2,1–9,0%] para Planalto-corte. No estrato Planalto-leite, a prevalência de focos foi de 33,1% [28,4–38,1%]. Os fatores de risco (Odds Ratios, OR) associados à condição de foco foram: possuir 500 ou mais vacas (OR = 2,46) e nascimento de bezerros fracos (OR = 1,20). O uso da inseminação artificial foi um fator protetor (OR=0,71) (CHATE et al., 2009).

O Estado de Minas Gerais foi dividido em sete circuitos produtores. As prevalências de focos e de bovinos soros reagentes foram: circuito 1 (Noroeste, Norte e Nordeste) - 4,72% [2,66-7,66%] e 0,82% [0,06-1,58%]; circuito 2 (Leste) - 7,17% [4,55-10,65%] e 1,18% [0,53-1,83%]; circuito 3 (Central) - 6,75% [4,28-10,04%] e 1,46 [0,47-2,75]; circuito 4 (Zona da Mata) - 6,50% [4,07-9,77%] e 1,06 [0,39-1,73]; circuito 5 (Sul e Sudoeste) - 3,80% [1,98-6,54%] e 0,40% [0,11-0,69%]; circuito 6 (Alto Parnaíba) - 6,23% [3,79-9,56%] e 0,66% [0,29- 1,02%]; circuito 7

(Triângulo Mineiro) - 11,00% [7,74-15,04%] e 1,74% [0,92-2,57%]; todo o Estado - 6,04% [4,98-7,10%] e 1,09% [0,78-1,41%]. O modelo de regressão constatou que a compra de animais para reprodução sem realização de testes acarreta fator de risco para a doença (GONCALVES et al., 2009).

O Estado do Paraná foi dividido em sete circuitos produtores. As prevalências de focos e de animais reagentes foram: circuito 1 (Nordeste) - 14,7% [10,90-19,25%] e 2,82% [1,24-4,40%]; circuito 2 (Centro-oeste-norte) - 8,82% [5,89-12,58%] e 2,40% [1,00-3,79%]; circuito 3 (Norte Pioneiro) - 3,37% [1,63-6,10%] e 0,85% [0,21-1,48%]; circuito 4 (Centro-sul) - 2,33% [0,94-4,73%] e 0,83% [0,02-1,64%]; circuito 5 (Oeste) - 2,33% [0,94-4,73%] e 1,66% [0,06-3,26%]; circuito 6 (Leste-sul) - 0,34% [0,00-1,89%] e 0,09% [0,00-0,27%]; circuito 7 (Sudoeste) - 1,00% [0,21-2,90%] e 2,20% [0,00-2,36%]; e todo o Estado - 4,02% [3,23-4,80%] e 1,73% [1,10-2,36%]. Compra de reprodutores e práticas de aluguel de pastos foram considerados fatores de risco (DIAS et al., 2009).

O Estado do Rio de Janeiro foi dividido em três circuitos. As prevalências de focos e bovinos reagentes para brucelose foram: circuito 1 (Norte) - 13,85% [10,19-18,17%] e 3,01% [1,93-4,09%]; circuito 2 (Centro-oeste) - 15,72% [11,90-20,19%] e 2,32% [1,41-3,23%]; circuito 3 (Sul-litoral) - 19,62% [15,38-24,43%] e 9,30% [4,52-14,08%]; e todo o Estado - 15,42% [12,91-17,91%] e 4,08% [2,83-5,33%]. Os fatores de risco considerados foram: compra de reprodutor, prática de aluguel de pasto e ter mais de 30 fêmeas com 24 meses de idade ou mais (KLEIN-GUNNEWIEK et al., 2009).

O Estado do Rio Grande do Sul foi dividido em sete circuitos produtores. As prevalências de focos e animais reagentes foram, respectivamente: circuito 1 (Sul) - 3,06% [1,40-5,73%] e 0,95% [0,00-1,97%]; circuito 2 (Fronteira Oeste) - 7,71% [4,95-11,35%] e 1,04% [0,40-1,68%]; circuito 3 (Missões Central) - 5,66% [3,38-8,79%] e 2,12% [0,41-3,83%]; circuito 4 (Norte) - 0,66% [0,08-2,37%] e 0,66% [0,00-1,81%]; circuito 5 (Serra) - 0,66% [0,08-2,38%] e 0,05% [0,00-0,13%]; circuito 6 (Metropolitana) - 0,00% [0,00-1,30%] e 0,00% [0,00-0,25%]; e circuito 7 (Litoral Norte) - 5,45% [2,52-10,10%] e 2,88% [0,49-5,27%]. Os fatores de risco associados foram exploração de corte e aborto (MARVULO et al., 2009).

No Estado de Rondônia, que foi dividido em três circuitos produtores, obtiveram-se as seguintes prevalências de focos e de animais reagentes,

respectivamente: circuito 1(Norte-oeste-sul) - 41,88% [36,31-47,61%] e 8,33% [5,90-10,75%]; circuito 2(Nordeste) - 31,70% [26,52-37,24%] e 5,99% [4,33-7,66%]; circuito 3 (Sudeste) - 31,92% [26,74-37,45%] e 4,58% [2,52-6,64%]; e todo o Estado - 35,18% [32,09-38,36%] e 6,22% [4,88-7,56%]. Os fatores de risco indicados foram o aborto e a exploração de corte (VILLAR et al., 2009).

O Estado de Santa Catarina foi dividido em cinco circuitos produtores. As prevalências de focos foram: circuito 1(Sul) - 10,33% [0,00-0,99%]; circuito 2 (Leste) - 0,33% [0,00- 1,00%]; circuito 3(Oeste) - 0,25% [0,00-0,75%]; circuito 4(Norte) - 0,66% [0,00-1,84%]; circuito 5(Nordeste) - 0,33% [0,00-1,00%]; e todo o Estado - 0,32% [0,10-0,69%]. Esse Estado demonstrou baixas prevalências e, como sugestão, admite-se que pode entrar em processo de erradicação da doença (SIKUSAWA et al., 2009).

No Estado de Sergipe obtiveram-se, respectivamente, as seguintes prevalências de focos e de animais reagentes: circuito 1 - 11,07% [7,87-15,00%] e 2,58% [1,62-3,54%]; circuito 2 -6,25% [3,00-9,49%]; e todo o Estado - 12,60 [9,19-6,01]. Os fatores de risco foram assistência veterinária e predominância de fêmeas no rebanho (SILVA et al., 2009).

O Estado de São Paulo foi dividido em sete circuitos produtores e as prevalências de focos e de animais reagentes foram: circuito 1 - 10,34% [5,91-16,49%] e 2,44% [0,76-4,12]; circuito 2 - 9,93% [5,67-5,85%] e 1,84% [0,39-3,29%]; circuito 3 - 10,13% [5,78-16,17%] e 7,98% [0,00-18,61%]; circuito 4 - 11,11% [6,61-17,19%] e 5,52% [0,72-10,32%]; circuito 5, 57,26% [3,92-12,10%] e 1,86% [0,45-3,27%]; circuito 6 - 8,22% [4,32-13,92%] e 1,68% [0,48-2,88%]; circuito 7 - 11,92% [7,22-18,18%] e 2,17% [0,77-3,56%]; e todo o Estado - 9,70% [7,80-11,60%] e 3,81% [0,72-6,90%]. Como variáveis de fatores de risco foram apontadas compra de reprodutores e rebanhos com mais de 87 animais (DIAS et al., 2009).

O Estado do Tocantins foi dividido em seis circuitos. As prevalências de focos e animais reagentes foram: circuito 1(Paraíso do Tocantins) - 16,01% [12,08-20,61%] e 3,53% [1,97-5,09%]; circuito 2(Araguatins) - 37,63% [32,08-43,43%] e 8,54% [5,89-11,18%]; circuito 3(Gurupi e Formoso Araguaia) - 26,38% [21,54-31,69%] e 4,12% [2,82-5,42%]; circuito 4(Palmas e Pedro Afonso) - 5,84% [3,50-9,08%] e 2,00% [0,00-4,04%]; circuito 5(Colinas) - 29,26% [24,26-34,66%] e 6,40%

[3,02-8,89%]; circuito 6 (Taguatinga) - 8,57% [5,72-12,23%] e 2,56% [1,21-3,93%]; e todo o Estado - 21,22% [19,33-23,11%] e 4,43% [3,57-5,29%] (OGATA et al., 2009).

No Estado do Maranhão o trabalho de campo foi realizado por técnicos da AGED/MA no período de fevereiro de 2007 a março de 2009. O Estado foi dividido em 4 circuitos produtores. As prevalências de focos e animais reagentes foram: circuito 1 – 4,02% [ 1,81-8,70%] e 0,70% [0,27-1,84%]; circuito 2 – 18,15% [14,12-23,01%] e 3,16% [ 2,08-4,78%]; circuito 3 – 8,00% [4,58-13,59%] e 1,99% [0,60-6,31%]; circuito 4 – 3,16% [1,31-7,40%] e 0,76% [0,29-1,94%]; e todo o Estado – 11,42% [9,23-14,06%] e 2,52% [1,73-3,65%]. Os fatores de risco associados aos focos foram rebanhos com mais de 54 vacas com mais de 2 anos de idade (OR= 4.1), aluguel de pasto de/para terceiros (OR= 1,8) e a áreas alagadiças na propriedade (OR= 1.6). Exploração de corte mostrou ser um fator protetor (OR= 0.4) (BORBA et al., 2012).

O estudo da caracterização epidemiológica da brucelose no Brasil indicou que a infecção está disseminada em todas as áreas estudadas e que a situação é heterogênea entre os estados e mesmo entre regiões de um mesmo estado; Por outro lado, as prevalências são mais altas nas regiões tradicionais produtoras de gado de corte (Centro-Oeste/Norte); a maioria das Unidades Federativas tem que atingir coberturas vacinais mínimas de 80%, mediante vacinação com B19, em bezerras com idade entre 3 a 8 meses, objetivando baixar a prevalência; todo o Estado de SC, parte Sul do PR e no Norte do RS as prevalências foram baixas e não mais se justifica a vacinação com B19, devendo ser implementadas medidas de erradicação da brucelose. Experiência que serviria de exemplo e modelo para o restante do País. (LAGE et al., 2008; FERREIRA NETO, 2009).

### 3.6 Brucelose no Estado do Maranhão

No Estado do Maranhão, Santos (1988) analisou 898 amostras de soros bovinos provenientes de 60 propriedades leiteiras na Ilha de São Luís pela prova de Soro Aglutinação Rápida e “Card Test” encontrando 5,2% e 5,4% de soros reagentes, respectivamente. Quanto às propriedades, a porcentagem de animais reagentes foi de 8,3%.

Com o objetivo de conhecer a prevalência de brucelose em trabalhadores de matadouros em São Luís – MA, Coelho et al., (1995) examinam 230 hemossoros pelas provas sorológicas de Soro Aglutinação Rápida e Fixação de Complemento, encontrando uma prevalência de 2,17% .

Nascimento (2000) pesquisando a doença em búfalos criados em dois municípios maranhenses examinou 565 amostras de soros sanguíneos, encontrando a prevalência de 1,06%.

Lacerda et al.,(2000) citam uma prevalência de 6/59 (10,17%) em estudo realizado em trabalhadores de matadouros no município de São Luís.

Silva (2000) relata uma prevalência de 12/142 (8,45%) de animais positivos para brucelose, mediante os testes SAR e AAT, no município de Riachão- MA, no período de 1997 a 1998.

Matos (2004) detectou aglutininas anti-*Brucella spp* no leite cru comercializado informalmente em diversos bairros na cidade de São Luís - MA, encontrando 10% de reação positiva ao Teste do Anel do Leite (TAL) em 20 amostras analisadas.

Camargo (2005) objetivando identificar aglutininas anti-*Brucella sp* em soros humanos provenientes de matadouro sob serviço de inspeção municipal em São Luís -MA analisou 35 amostras, todas apresentaram resultado negativo.

Santos et al.,(2007) diagnosticaram brucelose bovina e humana em um matadouro municipal de São Luís – MA , onde examinaram 419 amostras bovinas obtendo 25/419(5,97%) animais reagentes, destes,7/25(28%) apresentavam bursites onde foi isolada e identificada *Brucella spp*. Foram também colhidas 59 amostras de soro humano, dos quais, 6/59 (10,17%) reagiram ao teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME).

Moura (2008) realizou uma investigação epidemiológica da doença no município de São Domingos do Maranhão, onde examinou 159 soros bovinos pelo teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), sendo 120 amostras provenientes de propriedades rurais e 39 do matadouro municipal, obteve prevalências de 2,50% e 2,56%, respectivamente. As 30 amostras humanas examinadas (20 trabalhadores do matadouro e 10 de consumidores), todas foram negativas.

Prazeres (2009), no município de São Francisco do Brejão - MA, examinou 736 soros bovinos provenientes de 69 propriedades. Os soros foram submetidos aos

testes do AAT, SAL e 2-ME. O estudo constatou prevalência de propriedades focos de 30,43% e de animais soropositivos de 3,94%. Também constatou que a constante movimentação de bovinos nas propriedades (OR=9.50), restos de abortos no pasto (OR=5,54) e que áreas de pasto comum entre propriedades (OR=0,20) influenciaram na prevalência de focos detectada. Enquanto que, a idade dos bovinos (OR=5,28) e o aluguel pasto da propriedade para outros rebanhos (OR = 9,59) encontravam-se relacionados com o soro positividade dos animais.

Santana (2010) em uma investigação soro epidemiológica em 14 municípios na região do cerrado do Estado do Maranhão, Regional de Balsas (Sul do Estado), examinou 1.358 amostras de soro bovino, pertencentes a 158 propriedades da região, encontrou prevalências de focos e de animais reagentes 2,53% e 0,51%, respectivamente. Para a autora, o principal fator de risco associado à enfermidade foi aborto (OR = 9,06).

Cunha (2012) em um estudo para estimar a prevalência da brucelose em bovinos leiteiros e analisar os fatores de risco associados à transmissão da doença em trabalhadores rurais de três municípios da Regional de Itapecuru examinou 120 amostras de soros bovinos e 39 hemossoros humanos provenientes de 12 propriedades. A prevalência diagnosticada foi 21,83% para animais reagentes e 2,56% para humanos e de 31/120 (25,83%) para propriedades foco.

### 3.7 Epidemiologia e Transmissão

A brucelose bovina ainda é a zoonose mais prevalente no mundo, e tem um significado especial nos países em desenvolvimento (NETA et al., 2010). A doença apresenta relevante importância econômica e política por causar impacto negativo na reprodução de várias espécies domésticas. Além disso, possui grande importância social, já que várias espécies são capazes de causar infecção humana, com graves consequências. Portanto, a difusão do conhecimento da patogênese da doença é essencial para o seu controle (XAVIER et al., 2009).

A mucosa oral é a principal porta de entrada da infecção da *B. abortus* nos bovinos, mediante a ingestão de pastos, forragens e água contaminados. Outra via também muito importante é a aerógena (ACHA & SZYFRES, 2001). O animal infectado, principalmente a vaca prenhe, elimina uma grande quantidade de

bactérias durante o aborto ou parto e em todo período puerperal (aproximadamente 30 dias). A grande resistência da *B. abortus* no meio ambiente, influenciada pelas condições de temperatura, umidade e sombreamento, associada à grande quantidade de bactérias eliminadas se constitui na principal fonte de infecção para os animais susceptíveis. A transmissão também é influenciada pelo hábito dos bovinos como cheirar e lambe os animais recém-nascidos, ou fetos abortados, principalmente por outras vacas, onde o agente penetra através da mucosa nasal e conjuntival (BRASIL, 2006; LAGE et al., 2008).

A transmissão da brucelose pelos touros através da monta natural é pouco frequente, pois a vagina apresenta barreiras inespecíficas que dificultam a colonização do micro-organismo. Porém a inseminação artificial, com sêmen contaminado por *B. abortus* é altamente infeccioso, pois o mesmo é depositado dentro do útero, onde não existem estas barreiras inespecíficas (CAMPERO, 1993). A transferência de embriões, desde que realizada conforme recomendações internacionais é uma técnica segura para o controle de brucelose. Pode ocorrer a transmissão por soluções de continuidade na pele.

O período de incubação pode variar de poucas semanas, meses ou anos, dependendo do estado fisiológico do animal e do período em que ocorra a infecção, isto é, quanto mais adiantada à gestação menor será o período de incubação (BRASIL, 2006). As fêmeas prenhes são mais sensíveis e permanecem cronicamente infectadas devido à permanência das *Brucella spp* nos linfonodos, útero e úbere. E continuam eliminando o agente através do leite, fezes e urina (SIKUSAWA, 2004).

Alguns fatores são determinantes para a ocorrência da brucelose nos bovinos como, estado reprodutivo do animal, resistência natural, idade, via de infecção, estado imunológico, dose infectante e virulência da cepa. Animais jovens são mais resistentes à infecção por *B. abortus*, conseguindo eliminar o agente. Tal fato ocorre nos animais antes da puberdade, por isso caracteriza-se como uma enfermidade de animais sexualmente maduros (LAGE et al., 2005).

Terneiros que ingerem leite de vacas brucélicas podem contaminar o meio ambiente pela eliminação de bactérias junto com as fezes, pois nem todas são destruídas pelas enzimas digestivas (LUCAS, 2006). Os bezerros mesmo que se infectem ao serem amamentados com leite contaminado, ou mais tarde, durante sua

fase impúbere, geralmente debelam o agente. Porém existem casos comprovados de transmissão vertical em bovinos, ou seja, bezerras nascidas de vacas doentes em que houve longo silêncio do agente, que mais tarde foi isolado dessas fêmeas (CORRÊA & CORRÊA, 1992).

Em humanos a transmissão ocorre principalmente pelo consumo de leite cru ou derivado não pasteurizado, provenientes de animais infectados. Podendo ocorrer ainda pelo contato do agente com mucosas ou soluções de continuidade na pele (VASCONCELOS et al., 1987; BRASIL, 2006). Atualmente, as infecções brucélicas no homem, são mais comumente observadas em grupos ocupacionais com maior exposição a fatores de risco: veterinários, trabalhadores de fazenda, vacinadores, magarefes, trabalhadores da indústria de laticínios e laboratoristas (ACHA & SZYFRES, 2001; PAULIM & FERREIRA NETO, 2003; BRASIL, 2006). Apesar do processo de pasteurização do leite ser de importância para diminuir os casos de brucelose em humanos, a transmissão e a prevalência da doença depende da área geográfica estudada, do contato com animais infectados e seus subprodutos, e a existência de grupos ocupacionais (ACHA & SZYFRES, 2001; PAULIM & FERREIRA NETO, 2003). O período de incubação no ser humano varia de uma a três semanas até vários meses (BRASIL, 2006).

Diversos autores concordam que sendo a brucelose uma zoonose por excelência, que pode ser transmitida direta ou indiretamente, depreende-se que medidas de controle e erradicação da enfermidade nos animais são de suma importância e resultam em diminuição da incidência da doença no homem (ACHA & SZYFRES, 2001; PAULIM & FERREIRA NETO, 2003).

### 3.7.1 Fatores de Risco

Além do agente infeccioso (biotipo e grau de virulência) e do hospedeiro (estado imunitário e reprodutivo, sexo, idade, resistência individual), a difusão da brucelose apresenta importantes componentes ambientais que podem ser divididos naqueles que influenciam na transmissão da doença entre os rebanhos e outros que influenciam a transmissão dentro de rebanhos (NICOLETTI, 1980; CRAWFORD et al., 1990; ACHA & SZYFRES, 2001; PAULIM & FERREIRA NETO, 2003).

A introdução da brucelose em um rebanho livre tem como principal fator de risco a aquisição de animais. O aumento da frequência na compra de animais associado a não exigência de testes sorológicos negativos para brucelose dos animais adquiridos também contribui para introdução da enfermidade (CRAWFORD et al., 1990; LAGE et al., 2005). Portanto, recomenda-se adquirir animais de propriedades livres de brucelose, pois, mesmo comprando animais de propriedades que não tenham a doença, embora o atestado seja negativo, há o risco de estarem em período de incubação (LAGE et al., 2005).

A ausência ou a baixa taxa de vacinação, grande tamanho e alta densidade de alguns rebanhos, demora na separação dos animais positivos, criação conjunta com outras espécies, práticas de manejo, como a inseminação artificial, e ausência de piquete maternidade favorece a transmissão da brucelose dentro dos rebanhos (NICOLETTI, 1980; CRAWFORD et al., 1990; PAULIM & FERREIRA NETO, 2003; LAGE et al., 2005).

### 3.8 Patogenia

A infecção por *Brucella spp* se dá pelo contato do agente com a mucosa do animal susceptível, principalmente a mucosa oral (THOEN et al., 1993). Podendo penetrar também pelas mucosas nasal, genital, conjuntiva ocular ou por soluções de continuidade da pele. A principal porta de entrada para os bovinos é a mucosa orofaríngea (BISHOP et al., 1994). A patogenicidade das bactérias do gênero *Brucella* está intimamente relacionada com os mecanismos que permitem sua invasão, sobrevivência e multiplicação intracelular no hospedeiro, mantendo-as protegidas da ação do sistema imune (NIELSEN et al., 2004; XAVIER et al., 2009).

Após a multiplicação na porta de entrada, as *Brucella spp* são fagocitadas principalmente pelos macrófagos e carregadas até os linfonodos regionais, onde se multiplicam e podem permanecer por semanas a meses (BATHKE, 1988; BISHOP et al., 1994). Após esta multiplicação inicial, atingem a corrente sanguínea por meio do duto torácico, dentro dos macrófagos ou livres no plasma. Um aspecto importante da brucelose é a sua capacidade de persistir e replicar no interior das células fagocíticas do sistema mononuclear fagocitário. O mecanismo de permanência da *Brucella spp* no interior das células de defesa está relacionada à síntese de enzimas antioxidantes, produção de guanosina 5' monofosfato e adenina que inibem a fusão

do lisossomo e fagossomo impedindo a degranulação dos macrófagos durante a fagocitose, não havendo a destruição do agente infeccioso (NETA et al., 2010); bem como em células não fagocíticas, tais como os trofoblastos placentários (XAVIER et al., 2010) Vários períodos de bacteremia podem ocorrer.

A partir da circulação, difundem-se para os tecidos do hospedeiro, colonizando principalmente órgãos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário: baço, fígado, linfonodos (principalmente os supra mamários), aparelho reprodutor masculino, útero e úbere (PAULIM, 2003; BRASIL, 2006), onde podem acarretar alterações inflamatórias e anatomopatológicas caracterizadas por granulomas difusos levando à esplenomegalia, hepatomegalia e, às vezes, hiperplasia linfóide (BISHOP et al., 1994). Os órgãos de predileção são aqueles em que há maior disponibilidade de nutrientes necessários para seu metabolismo e multiplicação, como o eritritol (carboidrato), que está presente no útero gravídico, órgãos do sistema reprodutor masculino, tecidos mamários e ósteo articulares (PAULIM, 2003). A partir do quinto mês de gestação, a concentração do eritritol eleva-se atingindo níveis máximos, que ocorre próximo ao parto, estimulando a multiplicação da bactéria de forma crescente (BISHOP et al., 1994). O curso da doença vai depender do estágio fisiológico do animal. Animais jovens, antes da puberdade, parecem ser mais resistentes à infecção (LAGE et al., 2008).

Na fêmea, a infecção deixa de ser latente geralmente no terço final da gestação, quando o tecido córion-alantoideano está bem desenvolvido e há disponibilidade dos metabólitos, ocorrendo uma multiplicação intensa da bactéria, onde as endotoxinas liberadas após sua destruição geram lesões na placenta, principalmente, no tecido córion-alantoideano, levando a processo inflamatório dos tecidos e órgãos, causando placentite necrótica dos cotilédones, resultando no seu descolamento pela lise das suas vilosidades. Essas lesões comprometem a circulação materno-fetal, prejudicando sua respiração e alimentação, podendo levar à morte (BATHKE, 1988).

Nos casos agudos da doença, quanto maior a necrose, maior a chance de ocorrer abortamento, único sintoma aparente na maioria das infecções brucélicas. Por outro lado, quanto menos intensa a necrose maior será a deposição de fibrina e mais tardio o aborto. Nesse caso, pode ocorrer a retenção de placenta, ou a gestação vir a termo, com nascimento de bezerros fracos que poderão morrer em

alguns dias. O quadro pode evoluir para metrite ou endometrite crônica e consequente subfertilidade, infertilidade ou esterilidade (TIMONEY, 1988), com ou sem presença de corrimento vaginal (ACHA & SZYFRES 1986; BATHKE, 1988). Os focos de brucelose em rebanhos leiteiros acarretam uma redução da produção e aumento das células somáticas no leite, podendo levar a uma mastite intersticial, havendo eliminação do patógeno pelo leite (XAVIER et al., 2010).

No aparelho reprodutivo masculino *Brucella* spp pode levar à reação inflamatória do tipo necrosante nas vesículas seminais, testículos e epidídimos, com aumento de seu volume uni ou bilateral, provocando subfertilidade, infertilidade ou esterilidade. Como sequela pode haver atrofia do órgão afetado. No aparelho locomotor pode causar infecções articulares levando a bursites, principalmente nas articulações carpianas e tarsianas, e espondilites, especialmente nas vértebras torácicas e lombares, podendo também atingir a medula óssea e bainha dos tendões (PAULIM, 2003).

Quando a brucelose é introduzida em uma população de animais suscetíveis, os abortamentos poderão chegar a 80%. 10 a 20% das vacas podem ter recidivas e raramente abortam pela terceira vez (PAULIM & FERREIRA NETO, 2003).

### 3.9 Sinais Clínicos e Lesões

Nos animais domésticos a brucelose é uma das mais importantes causas infecciosas de distúrbios reprodutivos. Nos bovinos e bubalinos, as fêmeas sexualmente maduras são mais suscetíveis à infecção por *B. abortus* que touros e esta susceptibilidade aumenta durante a evolução da gestação. O principal sintoma clínico em vacas é o aborto entre o 5º e 8º mês de gestação (PAULIM, 2003; MEGID et al., 2010). Entretanto, estes animais adquirem imunidade e podem não mais abortar nas gestações subsequentes (BRASIL, 2006; MEGID et al., 2010). Nestes casos, nascimento de bezerros fracos, natimortos, retenção de placenta e metrite, que pode causar infertilidade permanente ou temporária, são mais frequentes (PAULIM, 2003, LAGE et al., 2008; MEGID et al., 2010 ).

Vacas com infecção crônica, muitas vezes apresentam uma reação inflamatória intersticial na glândula mamária, a qual está associada com a eliminação de bactérias no leite. Os macrófagos da glândula mamária podem

fornecer o ambiente intracelular para a persistência da *B. abortus* no úbere (MEGID et al., 2010).

No aparelho reprodutor dos machos, a infecção brucélica pode causar orquite, epididimite e vesiculite ocasionado infertilidade, devido diminuição da qualidade do sêmen. A orquite geralmente é unilateral e pode ocorrer necrose do testículo. Lesões articulares (artrites) e bursites também foram relatadas em animais com infecção crônica (PAULIM, 2003; LAGE, 2008).

No feto abortado, um exsudado fibrinoso na pleura, associado a uma broncopneumonia supurativa e pericardite fibrinosa ocorre com frequência (XAVIER et al., 2009; MEGID et al., 2010).

A doença provoca lesões nos órgãos reprodutores dos animais podendo levar à infertilidade e importantes perdas econômicas. Ocasionalmente também alterações no sistema microcítico fagocitário (retículo- endotelial) (GOMES, 2014).

Na espécie suína os sinais clínicos mais frequentes são: aborto, nascimento de leitões fracos, orquite, epididimite, infertilidade, espondilite da região lombar e sacral, artrite. Já em ovinos e caprinos produz uma doença crônica em animais sexualmente adultos, sendo o trato genital o principal alvo da bactéria. A *B. melitensis* acomete ambas as espécies, sendo o aborto em cabras o principal sinal clínico, enquanto *B. ovis* acomete apenas ovinos e é a causa de epididimite contagiosa dos carneiros. A doença é caracterizada por uma diminuição da fecundidade do rebanho, aumento na mortalidade de cordeiro/cabrito com uma baixa taxa de desmama e diminuição na produção de leite (MEGID et al., 2010).

Em equídeos a doença ocorre pelo contato com animais infectados, pela ingestão de água ou alimentos contaminados e pela penetração do agente na pele ou membrana mucosa. As lesões sugestivas da doença são inflamações purulentas em bursas, ligamentos, tendões, sinóvias e articulações, preferencialmente na região da cernelha ou escápula (bursite supra-espinhosa), com presença ou não de fístulas (VASCONCELLOS et al., 1987; PAULIM, 2003), popularmente denominadas “Mal de Cernelha”, “Mal da Cruz”, “Bursite Cervical” ou “Abscesso de Cernelha” (PAULIM, 2003; RIBEIRO et al., 2008; MEGID et al., 2010).

Referente aos cães, estes são infectados pela *B. abortus* esporadicamente e geralmente resulta do contato de animais da zona rural com produtos de origem animal contaminado ou pela ingestão de restos de abortos brucélicos. Não há sinais

clínicos patognomônicos para brucelose canina, mas uma consideração importante em cães é a insuficiência reprodutiva ou infertilidade (MIRANDA et al., 2005; MEGID et al., 2010).

A brucelose nos seres humanos pode ser uma doença grave, debilitante e muitas vezes levando à cronicidade, podendo afetar uma variedade de órgãos. A maioria dos casos é causada por exposição ocupacional aos animais infectados ou a ingestão de leite cru e produtos lácteos não pasteurizados (BRASIL, 2006; LAGE et al., 2008; MEGID et al., 2010). O período de incubação é de 1-3 semanas, podendo durar vários meses e pode ser confundida com gripe recorrente. *B. melitensis* é a causa mais importante da brucelose humana em todo o mundo, e está associada com infecção aguda, enquanto que a infecção por outras espécies são geralmente subaguda ou crônica. Os sinais mais comuns são febre ondulante, suores noturnos com peculiar odor, calafrios, fraqueza, mal-estar, insônia, anorexia, cefaléia, artralgia (principalmente região lombo-sacral), dores musculares, constipação, dores testiculares, impotência sexual, nervosismo e depressão (ACHA & SZYFRES, 2001; SANTOS et al., 2005; LAGE et al., 2008; MEGID et al., 2010).

A infecção também pode atingir órgãos internos causando encefalite, meningite, espondilite, artrite, hepatoesplenomegalia, orquite e prostatite. Apesar de incomum, abortos espontâneos em mulheres grávidas infectadas com *Brucella* têm sido observados, em estágios iniciais. A endocardite é uma complicação rara e grave, sendo responsável por pelo menos 80% das mortes por brucelose. Comumente está associada com *B. melitensis* (MEGID et al., 2010).

Complicações neurológicas como meningoencefalite, abscesso cerebral e paralisia facial já foram relatadas no início da doença, período de convalescença ou mesmo algum tempo após a recuperação de uma infecção aguda. Meningite brucélica em crianças está correlacionada com a ingestão do leite materno (GODFROID et al., 2005; TIKARE et al., 2008; MEGID et al., 2010).

Neurobrucelose e granulomas intracerebrais foram relatados em dois pacientes infectados com cepas marinhas de *Brucella* (MEGID et al., 2010).

### 3.10 Imunidade

As *Brucella spp* são bactérias intracelulares facultativos, com habilidade para se multiplicar e sobreviver dentro dos macrófagos. Em virtude desta capacidade, a

proteção contra a infecção e a eliminação do parasito do hospedeiro depende inicialmente da resposta imune mediada por células, isto é, pela interação de células fagocitárias (neutrófilos e macrófagos) e de células específicas, linfócitos T auxiliares e citotóxicos (BRASIL, 2006).

A resposta de anticorpos após uma infecção por *B. abortus* patogênica caracteriza-se pelo aparecimento de quatro isotipos de imunoglobulinas: IgM, IgG1, IgG2, IgA (NIELSEN et al., 1994). Imunoglobulinas específicas são dirigidas em sua grande maioria contra o lipopolissacarídeo (LPS) de *Brucella spp*, principalmente contra a cadeia "O" do LPS. A resposta de IgM aparece poucos dias após a exposição, aumenta rapidamente, atingindo um valor máximo entre 13<sup>o</sup> - 21<sup>o</sup> dias e depois declina, permanecendo, porém em níveis detectáveis. O isotipo IgG1 segue um padrão semelhante, com a máxima concentração entre 28<sup>o</sup> - 42<sup>o</sup>, sem no entanto, apresentar declínio com o passar do tempo, sendo esta a classe de anticorpos mais importante do ponto de vista diagnóstico. Os isotipos IgG2 e IgA aparecem ao redor de duas semanas pós-infecção, aumentam gradualmente, mas permanecem em níveis baixos (PAULIM, 2003).

Ao contrário, bezerras vacinadas até oito meses de idade com a amostra B19, embora apresentem uma resposta de anticorpos muito similar à dos animais infectados, com o passar do tempo, os quatro isotipos tendem a declinar rapidamente da circulação, atingindo títulos inferiores a 25 UI depois de 12 meses. Desse modo, ao redor de 24 meses de idade praticamente todos os animais apresentam-se sorologicamente negativos, embora imunizados, pois a imunidade protetora é principalmente celular (NIELSEN et al., 1996; NIELSEN, 2002; BRASIL, 2006).

Em função da sua estrutura pentamérica e de sua decavalência, a imunoglobulina da classe M (IgM) é uma aglutinina com grande capacidade aglutinante nas provas de soroaglutinação. É o anticorpo predominante na resposta humoral de curta duração contra a maioria dos antígenos bacterianos e por isso é a principal fonte de anticorpo responsável por reações cruzadas e indesejáveis, inclusive aquelas produzidas por reações contra outras bactérias. Em função disto, a maioria das modificações introduzidas nos testes diagnósticos de brucelose visa reduzir a atividade desse anticorpo (POESTER et al., 2005).

### 3.11 Diagnóstico

O diagnóstico da brucelose animal pode ser realizado por diferentes métodos isoladamente ou em conjunto, visando à correta identificação dos animais infectados (POESTER et al., 2005; LAGE et al., 2008). Para isso são utilizados vários testes diagnósticos em função de suas características de sensibilidade e especificidade, de fácil realização, de baixo custo e de disponibilidade. Entre eles destacam-se: (i) diagnóstico clínico, baseado em abortos, nascimento de bezerros fracos e esterilidade de machos e fêmeas; (ii) dados epidemiológicos baseados na história dos rebanhos; (iii) diagnóstico direto, compreendendo o isolamento e identificação do agente, a reação em cadeia da polimerase (PCR) e as técnicas de imunistoquímica; (iv) diagnóstico indireto, através da sorologia, para demonstração de imunoglobulinas nos fluidos orgânicos (OLASCOAGA, 1976; POESTER et al., 2005).

As observações clínicas e epidemiológicas induzem apenas suspeita da doença num rebanho, a qual deve ser confirmada pela identificação da bactéria, que é o método mais seguro de diagnóstico. No entanto, trata-se de um processo lento, caro e de alto risco para o laboratorista, envolvendo a manipulação de tecidos de fetos abortados, placenta, exsudatos vaginais, sêmen ou leite contaminado (CORBEL, 2006; LAGE et al., 2008), o que exige a adoção de normas estritas de biossegurança (POESTER et al., 2005).

Os testes sorológicos para detecção de anticorpos no soro ou leite ou outro fluido são mais rápidos, menos oneroso e laborioso, confiável e indicativo de resposta à exposição por *Brucella abortus* (OLASCOAGA, 1976; NIELSEN, 2002).

#### 3.11.1 Métodos Diretos

O isolamento e a identificação da *Brucella abortus* a partir de material biológico como aborto (feto, conteúdo estomacal de feto, placenta ou de secreções) apresenta bom resultado se a colheita e o transporte forem realizados adequadamente e se a amostra for processada em laboratório capacitado (BRASIL, 2006). É um diagnóstico definitivo e incontestável, porém é caro, demorado, exige recursos laboratoriais nem sempre disponíveis, o que inviabiliza seu uso em larga

escala, como requer um programa de controle de enfermidade (MATHIAS et al., 2007). Já a técnica PCR detecta um segmento de DNA específico da *Brucella abortus* em material de aborto, em secreções e excreções. É uma técnica muito específica e sensível, mas requer pessoal treinado e equipamentos sofisticados. Quanto à técnica de Imunohistoquímica, esta pode ser realizada a partir de fragmentos do aborto após a fixação em formol o que permite tanto a identificação do agente como a visualização de aspectos microscópicos do tecido examinado (BRASIL, 2006).

### 3.11.2 Métodos Indiretos ou sorológicos

O diagnóstico sorológico baseia-se na reação entre antígenos de *Brucella spp* e anticorpos produzidos em resposta a uma infecção (POESTER et al., 2005). Visa demonstrar a presença de anticorpos contra *Brucella spp* nos fluídos corporais como o sêmen, muco vaginal, soro sanguíneo e leite. Reações falso-positivas podem decorrer como resultado da vacinação com B19 após a idade recomendada ou devido à presença de anticorpos não específicos existentes nas infecções por outras bactérias como, por exemplo: *Pseudomonas sp*, *Salmonella spp*, *Escherichia coli* O 157 ou *Yersinia enterocolítica* O:9 (BRASIL, 2006).

Vários fatores podem influenciar na resposta sorológica da infecção por *Brucella spp*, entre estes as condições vacinais dos animais, a natureza do desafio, a variação individual da resposta à vacinação e infecção, o estágio da gestação no momento da infecção e o longo e variável período de incubação da doença durante a qual a sorologia pode ser negativa (BRASIL, 2006).

Uma estratégia que tem gerado resultados e avanços significativos no combate à brucelose é a combinação de testes utilizados em série. Essa estratégia tem como base a escolha de um teste de triagem de fácil execução, baixo custo e de boa sensibilidade, seguido de um teste confirmatório, realizado somente nos soros reagentes ao teste anterior, que é um teste mais laborioso e com maior especificidade. O teste confirmatório deve ter também boa sensibilidade (MATHIAS et al., 2001 )

O Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) optou pelo uso do teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) para

triagem, sendo a confirmação dos resultados positivos efetuada pela combinação do teste de soroaglutinação lenta em tubos (SAL) com o teste do 2-mercaptoetanol (2-ME) ou pela reação de fixação de complemento (RFC) (BRASIL, 2006). Células inteiras da amostra de *B. abortus* 1119-3 são utilizadas na preparação dos antígenos.

Em 2010, o MAPA através da IN Nº 27/2010 aprovou o Teste de Polarização Fluorescente (TPF) para utilização pelo PNCEBT no diagnóstico da brucelose bovina e bubalina, como teste único ou como teste confirmatório (BRASIL, 2010).

- Testes de Triagem (BRASIL, 2006).

- ✓ Teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT)

O AAT é um teste de triagem preparado com o antígeno na concentração de (8%) tamponado em pH ácido (3,65) e corado com rosa-bengala. A maioria dos soros de animais bacteriologicamente positivos apresenta reação a esta prova. Sugere-se a confirmação por meio de testes de maior especificidade, para se evitar o sacrifício de animais não infectados, pois podem ocorrer alguns poucos casos de reações falso-positivos em decorrência da utilização da vacina B-19.

É uma prova qualitativa porque não indica o título de anticorpos do soro testado. A leitura revela a presença ou a ausência de IgG<sub>1</sub>. O pH acidificado da mistura soro-antígeno inibe a aglutinação do antígeno pelos IgM. O teste detecta com maior precocidade as infecções recentes, sendo, nesse aspecto, superior a prova lenta em tubos.

- ✓ Teste do Anel em Leite (TAL)

Este teste serve para se detectar rebanhos infectados, como também para se monitorar rebanhos leiteiros livres de brucelose. Pode ocorrer resultado falso positivo em presença de leites ácidos, de animais em início de lactação (colostró) ou provenientes de animais portadores de mamites.

A baixa concentração celular do antígeno (4%) torna este teste muito sensível, pois foi idealizado para ser aplicado em misturas do leite de vários animais.

A cor azul característica da reação positiva se deve ao uso de antígenos corados com hematoxilina.

Se existirem anticorpos no leite, eles se combinarão com partículas do antígeno ( *Brucella abortus* ) formando uma malha de complexo antígeno-anticorpo que por sua vez, será arrastada pelos glóbulos de gordura fazendo com que se forme um anel azulado na camada de creme do leite (reação positiva). Na ausência de anticorpos o anel do creme terá coloração branca e a coluna de leite permanecerá azulada, reação negativa.

- Testes Confirmatórios (BRASIL, 2006).

- ✓ Teste de Soroaglutinação em Tubos (SAT)

SAT é um teste que, em associação com o teste do 2-Mercaptoetanol confirma resultados positivos em provas de rotina. Também é denominado de prova lenta porque a leitura do resultado é efetuada em 48 horas. Animais com idade acima de 8 meses, vacinados com B19 podem apresentar títulos de anticorpos para esta prova por um longo tempo ou até mesmo permanentemente. Também permite identificar uma alta proporção de animais infectados, mas costuma apresentar resultados falso-negativos e no caso de infecção crônica pode aparecer títulos significativos em animais não infectados por *Brucella abortus*, como decorrência de reações cruzadas com outras bactérias.

- ✓ Teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME)

O teste 2-ME deve ser executado simultaneamente com a prova lenta em tubos. É uma prova quantitativa seletiva que detecta somente a presença de (IgG) no soro, indicativa de infecção crônica. Baseia-se no fato dos anticorpos da classe (IgM) degradarem-se em subunidades pela ação de compostos que tenham radicais tiol. Como as subunidades não dão origem a complexos suficientemente grandes para provocar aglutinação, soros com predomínio de (IgM) apresentam reações negativas nesta prova e positivas na lenta. A interpretação dos resultados é dada pela diferença entre os títulos dos soros sem tratamento (prova lenta), frente ao soro tratado com 2-Mercaptoetanol.

Vale ressaltar que, resultados negativos no 2-ME e positivos na prova lenta devem ser interpretados como reações inespecíficas, ou como devido a anticorpos residuais de vacinação com B19. Por outro lado, resultados positivos nas duas provas indicam a presença de IgG, ou seja, de animais infectados .

✓ Fixação de Complemento (FC)

É o teste de referência recomendado pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) para o Trânsito Internacional de Animais e tem sido empregado em diversos países que erradicaram a brucelose ou estão em fase de erradicá-la. Tem demonstrado boa correlação com a presença da infecção. Também foi constatado que animais vacinados com B19 entre três a oito meses de idade tornam-se negativos à reação de FC, seis meses após a vacinação. Apesar do teste detectar tanto IgG1 como IgM, o isótipo IgG1 é mais efetivo como fixador de complemento. Animais infectados permanecem positivos por mais tempo e com títulos fixadores de complemento mais elevados do que nas provas de aglutinação. Em animais vacinados acima de 8 meses, os anticorpos que fixam complemento desaparecem mais rapidamente que os aglutinantes (PAULIM & FERREIRA NETO , 2003). É uma técnica laboriosa, porém apresenta as vantagens de ter um custo relativamente baixo e de usar reagentes de fácil acesso, mesmo por parte de laboratórios sem muitos recursos, e sem a necessidade de importar equipamentos e reagentes.

O teste consiste no uso do soro a atestar submetidos a tratamento térmico em banho-maria a 58°C por 30 minutos, a fim de inativar o complemento porventura ainda existente, uso do antígeno de *B. abortus* amostra 1119/3, padronizado pelo fabricante para uso na prova de SAL, nas diluições recomendadas, uso do complemento de soro sanguíneo de várias cobaias, titulado, e uso do sistema hemolítico formado por uma suspensão de hemácias de carneiro, padronizada. O teste é realizado em placas de poliestireno de 96 cavidades com fundo em "U" onde se coloca 25µL de soro, inativado + 25µL de antígeno e 25µL de complemento, incuba-se em estufa bacteriológica a 37°C por 30 minutos, acrescenta-se 25µL do sistema hemolítico, agita-se em agitador de microplacas, incuba-se novamente e as placas são colocadas em geladeira para interromper a ação do complemento, centrifuga-se a 1.500G por 5 minutos e realiza-se a leitura, observando-se o grau de

fixação de complemento cujo título positivo corresponde ao soro com pelo menos 25% de fixação de complemento na diluição 1:4 (ALTON et al., 1988) .

✓ Teste de Polarização Fluorescente (TPF)

Este método foi adaptado por Nielsen et al., (1996) para o mensuramento de anticorpos produzidos contra *B. abortus*. Utiliza-se o antígeno preparado com o polissacarídeo "O" também denominado cadeia "O", de *B. abortus*, marcado com isotiocianato de fluoresceína, cujo peso molecular é pequeno. O teste se fundamenta na comparação de velocidade dos movimentos aleatórios das moléculas em solução. O tamanho molecular é o fator que influencia a velocidade de rotação e as moléculas em solução sofre rotação aleatória em uma taxa inversamente proporcional ao seu tamanho. Antes de se adicionar o antígeno ao soro, faz-se uma leitura apenas com o soro diluído para se obter o "ruído de fundo" da amostra. Logo após, o antígeno é adicionado ao soro diluído e incubado por dois minutos. A seguir o analisador faz a leitura do resultado, subtraindo a leitura final da inicial, sendo o resultado apresentado em unidades de milipolarização - mP (NIELSEN et al., 1996; NIELSEN et al., 2000).

Quando há formação do complexo antígeno-anticorpo-conjugado, este apresentará um tamanho maior que o do antígeno isolado, logo sua velocidade de rotação será mais lenta, o que será medido e registrado pelo analisador. Um ponto de corte é estabelecido em unidades de milipolarização indicando que os soros com resultados acima deste valor são considerados positivos e aqueles com resultados inferiores são considerados negativos (POESTER et al., 2005).

O TPF descrito para diagnóstico da brucelose necessita de um analisador de fluorescência polarizada conectado a um microcomputador (NIELSEN et al., 2001). É um teste de alta sensibilidade e especificidade, rápido, eficiente e pode ser realizado em nível de campo, usando soro, leite ou mesmo sangue total (com anticoagulante EDTA) em animais (POESTER et al., 2005). Tendo sido validado também para espécie humana (LUCERO et al., 2000).

O teste de polarização fluorescente apresenta alta sensibilidade, alta especificidade e alta reprodutibilidade interlaboratorial. Devido a esse bom

desempenho, à facilidade e à rapidez de execução, o teste poderá ser útil ao programa de controle e erradicação em vigor no Brasil (MATHIAS et al, 2010)

### 3.12 Prevenção e Controle

O êxito de um programa de controle e erradicação de uma doença infecciosa como a brucelose, em diversos níveis populacionais (propriedade, rebanho, região, estado e país) tem demonstrado ser uma tarefa árdua (LAGE et al., 2005). Tal fato se torna mais laborioso ainda quando existe uma diversidade de animais susceptíveis à enfermidade (CASTRO et al., 2005).

O controle de brucelose é de extrema importância, devido seu caráter zoonótico, perdas econômicas, ampliação de novos mercados cuja prevenção possibilitará oferecer produtos de qualidade sanitária. E depende fundamentalmente de dois fatores no manejo dos rebanhos acometidos: da prevenção da exposição e transmissão de animais suscetíveis à *B. abortus* (identificação, separação e sacrifício dos animais infectados, destruição dos restos placentários e fetos abortados, limpeza e desinfecção de instalações e utensílios, utilização de piquetes maternidade, testes de diagnóstico e quarentena na aquisição de animais introduzidos no plantel) e do aumento da resistência da população bovina à infecção através da vacinação de fêmeas jovens (3 a 8 meses de idade) com a B19, associada à vacinação com a RB51, vacina não indutora de anticorpos aglutinantes, recomendada para fêmeas com idade superior a 8 meses, mas que eleva a cobertura vacinal e diminui a taxa de infecção. Paralelamente a estes dois fatores estratégicos ações de Educação Sanitária para conscientização de produtores, vaqueiros, tratadores, vacinadores e técnicos são as únicas maneiras duradouras e eficientes para obtenção das metas em um programa de controle e erradicação (LAGE et al., 2005 ; BRASIL , 2006; LAGE et al., 2008).

As normas estabelecidas pelo PNCEBT não recomenda o tratamento de bovinos reagentes, os animais devem ser separados do rebanho e sacrificados na própria fazenda ou encaminhados para abate sanitário sob serviço de inspeção oficial (BRASIL, 2006). Para o seu controle é essencial o diagnóstico e eliminação de animais positivos, além da vacinação que se mostra como medida profilática crucial (MATHIAS et al., 2001).

Quanto à prevenção da brucelose humana, esta depende do controle da enfermidade nos animais, da inspeção sanitária de produtos de origem animal, educação em saúde e notificações de casos, devendo existir uma cooperação mais estreita entre os serviços de saúde animal e humano (BRASIL, 2010). Por outro lado, o tratamento é prolongado, de 6 a 8 semanas, é realizado com antibióticos, sendo a droga de escolha a Doxiciclina (200 mg/dia), em combinação com a Rifampicina (600 a 900 mg/dia), e deve ser iniciado o mais rápido possível, pois é mais eficiente nos casos agudos (CORBEL et al., 2006; BRASIL, 2010)

### 3.13 Importância para Saúde Pública

A brucelose é considerada uma antropozoonose e uma doença ocupacional. Apresenta-se como uma doença infecciosa normalmente crônica, facilmente transmissível, de tratamento prolongado e oneroso. Tem distribuição mundial com uma taxa de morbidade de 500,000 casos por ano e baixa mortalidade (MUFINDAA et al., 2011). Acarreta sério problema para a saúde pública, principalmente em países com baixo nível sanitário (MAFRA, 2006; MUFINDAA et al., 2011).

Devido seu caráter ocupacional, os profissionais como veterinários e tratadores que por força de suas atividades, frequentemente manipulam anexos placentários, fluidos fetais e carcaças de animais, estão mais expostos aos fatores de risco, quando esses materiais provêm de animais infectados. Também o manuseio das vacinas, que são patogênicas para o homem, põe em risco algumas classes de profissionais. Magarefes, trabalhadores da indústria de laticínios e donas-de-casa, pelo contato com carne ou leite contaminado, são igualmente indivíduos sujeitos a um maior risco de infecção (BRASIL, 2006).

O diagnóstico da brucelose humana é difícil devido os sintomas inespecíficos apresentados. Na fase aguda são descritos fraqueza, mal estar, dores musculares e variação de temperatura de forma ondulante, similares aos de uma gripe forte. A forma crônica é predominante (RIET CORREA et al., 2007).

A infecção brucélica humana no Brasil, embora subnotificada tem um grande impacto social devido à diminuição da produtividade e da qualidade de vida, e ocasionalmente incapacidade ou morte do indivíduo além do ônus econômico adicional (SANTOS et al., 2013).

Quanto ao tratamento, os indivíduos brucélicos são tratados com uma variedade de antibióticos e combinações de drogas. O fracasso no tratamento e recaída são determinantes para a persistência da infecção com sintomas focais ou severas complicações aumentando os gastos com diagnósticos, médicos, internações prolongadas e ausência ao trabalho (FRANCO et al., 2007).

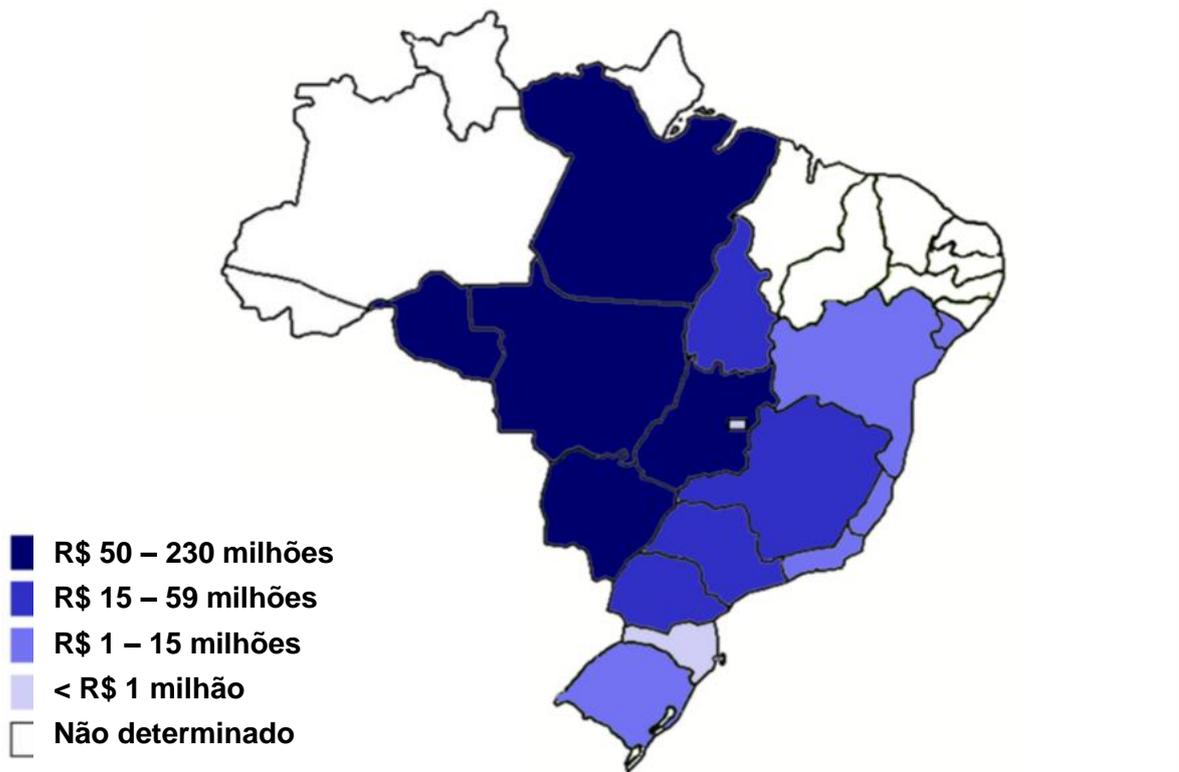
### 3.14 Perdas Econômicas

Apesar da escassez de informações sobre o impacto econômico causado pela brucelose bovina no Brasil, o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) disponibilizou recentemente dados epidemiológicos detalhados obtidos por meio de estudos que abrangeram em torno de 90% do rebanho nacional (POESTER et al., de 2013). Gastos relacionados com as ocorrências de abortos, natimortos, subfertilidade, descartes involuntários, mortalidade, intervenções veterinárias, diminuição da produção de leite e de carne foram considerados nos cálculos.

Vários parâmetros reprodutivos e produtivos foram utilizados como indicadores com pequenas adequações: 15% de incidência de abortos em novilhas e vacas infectadas; média de 2 meses de infertilidade temporária para cada vaca infectada e novilha, considerando que 20% das vacas que abortam se tornam estéreis, este índice foi incluído no cálculo dos custos de reposição; taxa de mortalidade perinatal de 10% para bezerros nascidos de vacas infectadas ou novilhas; 15% de perda da produção total de leite de vacas infectadas, perda de 5% na produção de carne de vacas infectadas; 1% o risco de mortalidade de vacas que abortaram (isto é, 0,15% de vacas e novilhas infectadas); aumento da taxa de substituição de 15% para vacas e novilhas infectadas (o custo foi calculado com base na diferença do valor recebido por uma vaca abatida nas condições sanitárias e do custo de substituição de uma vaca), e também custos com substituição de touros infectados (SANTOS et al., 2013).

As perdas foram fortemente influenciadas pela prevalência e produção do sistema (ou seja, lácteos x gado de corte). As perdas devidas à brucelose bovina no Brasil foram estimadas em R\$ 420,12 ou R\$ 226,47 para cada fêmea infectada acima de 24 meses de idade em rebanhos de leite ou corte, respectivamente. O

prejuízo total estimado foi de, aproximadamente, R\$ 892 milhões (equivalentes a \$ 448 milhões de dólares americanos) (SANTOS et al., 2013). Não foram contabilizadas perdas econômicas, advindas de possíveis infecções humanas, devido à brucelose bovina não ser precisamente avaliada no Brasil, onde há relatos de escassez de infecções em seres humanos, embora tenha sido claramente identificado como um grave problema de saúde pública entre os grupos ocupacionais de risco no Brasil (RAMOS et al., 2.008).

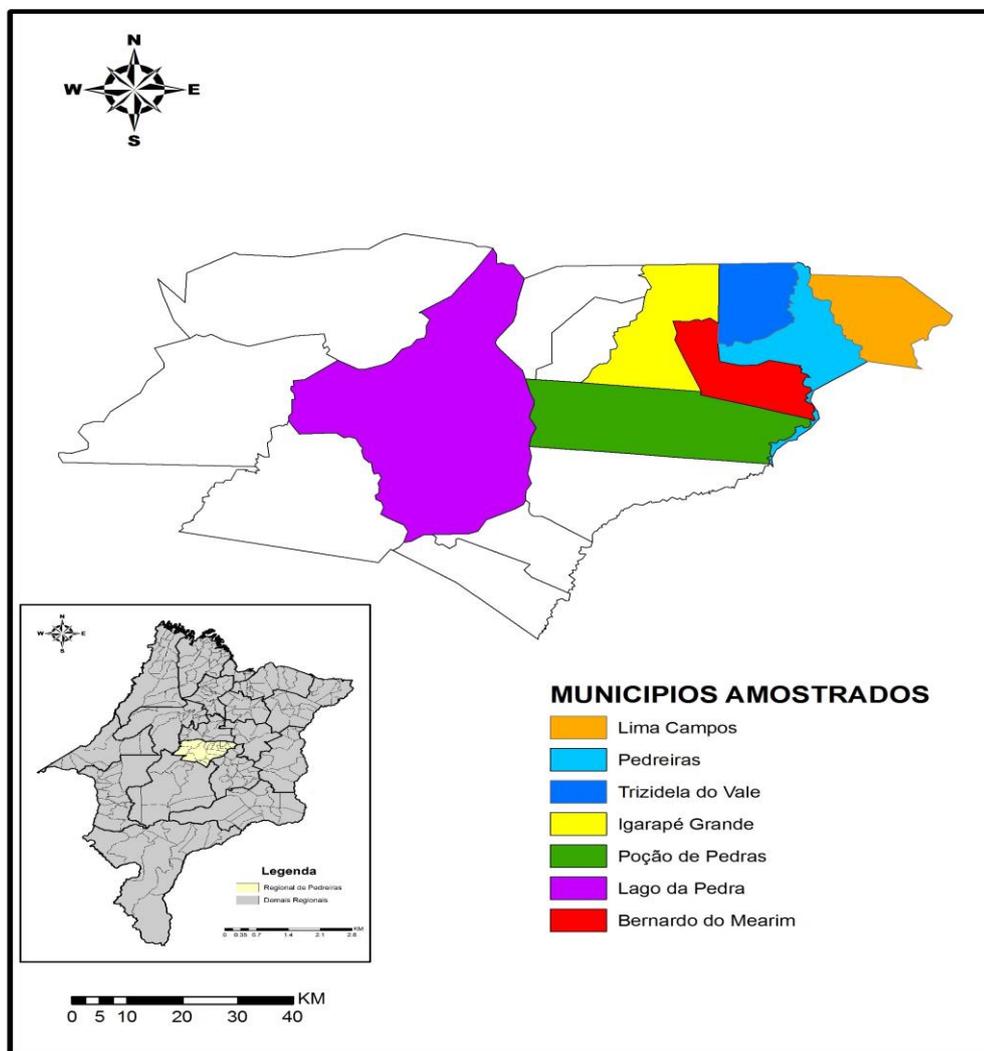


**Figura 1.** Total de perdas econômicas estimadas devido à brucelose bovina por estado no Brasil (SANTOS et al., 2013)

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Área de estudo

O presente trabalho compreendeu um estudo transversal observacional, no período de maio a outubro, onde os municípios amostrados foram: Lago da Pedra, Igarapé Grande, Bernardo do Mearim, Poção de Pedras, Trizidela do Vale, Pedreiras e Lima Campos que compõem a Regional de Pedreiras (Figura 2).



**Figura 2.** Mapa dos municípios amostrados na Regional de Pedreiras- MA, 2014

Conforme informações cadastrais obtidas nas UVL's e nos EAC's, da Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED-MA) a produção leiteira na regional é bastante expressiva, sendo produzidos 40.449 litros de leite por dia, de um rebanho leiteiro de 31.818 bovinos, distribuídos em 507 propriedades, tendo como principais produtores os municípios de Igarapé Grande e Bernardo do Mearim, com produção diária de 22.360 litros de leite. O que representa 55,27% da produção leiteira da regional (AGED, 2012).

Estratificando o rebanho leiteiro por faixa etária foi verificado que 19.922 (62,61%) são vacas maiores que 25 meses, caracterizando um rebanho com fêmeas aptas para reprodução (concepção, gestação e parto) e consequente produção de leite.

Assim, os 7 municípios acima citados foram escolhidos por serem os maiores produtores de leite da regional e reunirem as principais características pecuárias para execução do estudo.

#### 4.2 População estudada

Constitui-se de bovinos, não vacinados contra brucelose, de ambos os sexos, com idade superior a 13 meses; cujos proprietários aceitaram participar livremente do estudo.

Também foram colhidas amostras humanas de 60 ordenhadores das propriedades amostradas, obedecendo ao critério da voluntariedade e após terem lido e assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APENDICE C).

No diagnóstico sorológico não foram incluídos machos castrados e fêmeas prenhes entre duas e quatro semanas antes e após o parto ou aborto.

#### 4.3 Amostragem

Foram selecionados os rebanhos com aptidão leiteira, cadastrados na Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED-MA), utilizando-se métodos estatísticos para seleção dos mesmos e dos animais. Foi adotada a metodologia preconizada pelo Centro Panamericano de Zoonoses (1979) para

estudo de estimativa de prevalência. Para se definir o número de amostras testadas foi utilizada a seguinte expressão:

$$n = \frac{p(100 - p)z^2}{\left[\frac{p \cdot d}{100}\right]^2}$$

Onde: n= número de amostras  
 p= prevalência esperada  
 z= grau de confiança  
 d= margem de erro

Considerando a prevalência esperada de 30,43% correspondente a encontrada por Prazeres (2009) no município de São Francisco do Brejão Estado do Maranhão.

$$p = 30,43\%$$

$$z = 1,96 \text{ (95\%)}$$

$$d = 13 \% \text{ de erro, onde:}$$

$$n = \frac{30,43(100 - 30,43)1,96^2}{\left[\frac{30,43 \times 13}{100}\right]^2} = 520$$

Obteve-se 520 amostras, as quais foram elevadas para 525 amostras. Para cada um dos 07 municípios estudados foram sorteados de forma aleatória simples 05 (cinco) rebanhos, com base no cadastro de propriedades de produtores de leite existentes nas UVL's e EAC's da AGED/MA (2012), na Unidade Regional, totalizando 35 rebanhos.

#### 4.3.1 Seleção dos Animais

Em cada propriedade foram selecionados de forma aleatória simples, amostras de soro de 15 bovinos com a seguinte estratificação: 3 novilhas de reposição (13 a 24 meses), 4 vacas (25 a 36 meses), 7 vacas ( $\geq 36$  meses) e 01 touro ( $\geq 36$  meses) nos 7 municípios da Regional de Pedreiras, totalizando 75 amostras por município. E identificados conforme (Apêndice D).

Os municípios, distribuição dos rebanhos e número total de amostras encontram-se listados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Municípios, distribuição de rebanhos e amostras de soro colhidas para diagnóstico de brucelose bovina na Regional de Pedreiras - MA, 2014

<b>MUNICÍPIO</b>	<b>Nº REBANHOS</b>	<b>Nº AMOSTRAS</b>
Lago da Pedra	5	75
Igarapé Grande	5	75
Bernardo do Mearim	5	75
Poção de Pedras	5	75
Trizidela do Vale	5	75
Pedreiras	5	75
Lima Campos	5	75
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>525</b>

#### 4.3.2 Identificação das propriedades

Todas as propriedades foram georreferenciadas com aparelho GPS 76, devidamente configurados, empregando-se DATUM SAD69, no momento da aplicação do questionário e colheita de amostras. Fez-se uso do Software Track Maker v. 13,0 para capturar as coordenadas do GPS e converter em arquivo para ser exportado graficamente e identificar de acordo com os dados cadastrais disponíveis no Banco de Dados de Propriedades da Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED/MA), da seguinte forma:

- Nome da propriedade:
- Nome do município:
- Número total de amostras;
- Sequência de numeração das amostras:

#### 4.4 Colheita das amostras

##### 4.4.1 Amostras animais

Amostras de sangue foram colhidas através da punção da veia jugular, utilizando tubos a vácuo de 10 mL, com gel separador, devidamente esterilizados e identificados. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente para formação e retração do coágulo. Sendo conduzidas posteriormente, sob refrigeração para o Laboratório de Doenças Infecciosas do Curso de Medicina Veterinária da

Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, onde foram centrifugadas durante 5 minutos com força real de centrifugação igual a 1.000G. As alíquotas de soro obtidas foram transferidas para tubos de Eppendorfs, previamente identificados e mantidos em temperatura de congelamento (-20°C) até a realização dos exames sorológicos, conforme Instrução Normativa nº 06 de 08 de janeiro de 2004 (BRASIL, 2004).

#### 4.4.2 Amostras humanas

Foram colhidas amostras de sangue de 60 ordenhadores das 35 propriedades amostradas após o aceite voluntário em doar sangue. Realizou-se prévia explicação sobre o trabalho, leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dos participantes do estudo, e sob responsabilidade de uma Auxiliar de Enfermagem da Secretaria de Saúde do município e supervisão do Médico Veterinário foram colhidas as amostras, mediante a punção da veia radial com agulhas 25 x 8 mm em tubos tipo Vacutainer (10 mL), com gel separador, previamente identificados e em seguida mantidas em temperatura ambiente para retração e formação do coágulo. A seguir, as amostras foram conduzidas, sob refrigeração para o Laboratório de Doenças Infecciosas do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, onde foram centrifugadas durante 5 minutos com força real de centrifugação igual a 1.000G. As alíquotas de soros obtidas foram transferidas para tubos Eppendorfs com capacidade de 2 mL e mantidos em temperatura de congelamento (- 20 °C) até a realização dos exames sorológicos.

#### 4.5 Testes diagnósticos

As amostras de soro colhidas foram submetidas ao teste de triagem do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), seguido do teste confirmatório 2 – Mercaptoetanol (2-ME) e Teste de Polarização Fluorescente (TPF) dos animais reagentes, conforme metodologia preconizada. O protocolo dos exames e interpretação dos resultados do AAT e 2-ME seguiu a Instrução Normativa nº 41 de 24 de novembro de 2006 (BRASIL, 2006), sendo considerado soropositivo o animal que apresentasse reação ao 2-ME e, como foco, a propriedade cujo rebanho apresentasse pelo menos um animal soro-reagente.

A leitura dos resultados do AAT foi interpretada de acordo com os critérios:

- Presença de grumos: Reagente;
- Ausência de grumos: Não reagente

Os resultados positivos na prova lenta e negativos no 2-ME foram considerados como reações inespecíficas ou como devido a anticorpos residuais com vacinação B19.

Resultados positivos em ambas as provas, ou seja, os que indicam a presença de IgG, que são as aglutininas relacionadas com infecção foram anotados em formulário (Anexo C).

O TPF foi realizado com o “*Brucella abortus* Antibody Test Kit”, composto por soro controle-positivo, soro controle-negativo, tampão concentrado 25 vezes e antígeno lipopolissacarídeo conjugado com fluoresceína. Testaram-se os soros na diluição 1:100, com 10 µL de soro e 990 µL de diluente. Após pelo menos cinco minutos da diluição, agitaram-se os soros em agitador de tubos, e realizou-se uma primeira leitura. Em seguida, acrescentaram-se 10µL de conjugado, agitou-se novamente o tubo e, após pelo menos dois minutos, realizou-se a segunda leitura. As leituras foram feitas usando um alisador de polarização fluorescente modelo Sentry 100, sendo os resultados expressos em unidades de milipolarização (mP), e interpretados da seguinte forma: Negativo ( até 9,9 mP), Suspeito (10,0 a 20,0 mP) e Positivo (> 20,0 mP) (MATHIAS et al., 2010). Este exame foi realizado no Laboratório do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, da Universidade Estadual Paulista (UNESP).

#### 4.6 Questionário

De forma simultânea à colheita de sangue foi aplicado um questionário epidemiológico em todas as propriedades para avaliar o grau de risco de disseminação da doença no rebanho (APÊNDICE A).

Dentre as variáveis analisadas no questionário epidemiológico foram estudadas como potenciais fatores de risco: utilização de inseminação artificial, existência de ovinos, caprinos, equinos, suínos, cães, presença de espécies silvestres, ocorrência de abortamentos, procedimento com o animal que abortou,

destino dado ao feto abortado e placenta, realização de testes para diagnóstico de brucelose, compra de fêmeas e machos para reprodução, venda de fêmeas e machos para reprodução, conhecimento sobre a doença, vacinação contra brucelose bovina, existência de piquete maternidade, existência de áreas alagadiças acessíveis ao gado, aluguel de pasto, utilização de piquetes de parição, fonte de água dos animais, assistência veterinária, realização de controle reprodutivo, manipulação de fêmeas com dificuldades ao parto.

Aos ordenadores também foi aplicado um questionário para avaliar os fatores de risco conforme (APÊNDICE B).

#### 4.7 Processamento de dados

Foi criado um banco de dados para armazenamento dos resultados dos testes sorológicos e as informações do questionário sobre os fatores de risco aplicados nas propriedades em uma planilha utilizando-se o programa Excell (2003).

A digitação era realizada à medida que a informação era obtida, com revisão periódica da sua qualidade.

#### 4.8 Análise Estatística

Estimou-se a frequência de focos (rebanhos com pelo menos um animal soropositivo para brucelose) e a frequência de animais soropositivos.

Para a identificação dos fatores de risco associados com a ocorrência da brucelose foi utilizado o modelo de regressão logística (HOSMER & LEMESHOW, 1998), utilizando o programa Stata 9.0. Foi feita uma primeira análise exploratória dos dados de cada variável independente com a variável resposta (univariada) para seleção daquelas com  $p < 0,20$  para o teste do  $\chi^2$  ou Exato de Fischer, para integrarem o modelo multivariado. Permaneceram no modelo àquelas variáveis independentes que apresentaram  $p < 0,05$  na análise multivariada. Ainda foram estimadas razões de chances (OR) e intervalos de confiança de 95%. Também realizou-se a comparação dos testes confirmatórios pelo método de concordância ajustada *Kappa* (*K*), adotando-se o programa estatístico (OpenEpi versão 2.3/2010).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Frequência de brucelose em animais e rebanhos

Foram analisados 525 soros bovinos distribuídos em 35 rebanhos na área de estudo, obtendo-se um resultado de 26 animais com reação sorológica positiva no teste de triagem do AAT, 17 confirmados ao 2-ME e 13 no TPF. Obteve-se, portanto uma frequência de brucelose bovina, por teste, na ordem de 26/525 (4,95%) no AAT, 17/525 (3,23%) no 2-ME e 13/525 (2,47%) no TPF, conforme Tabela 2.

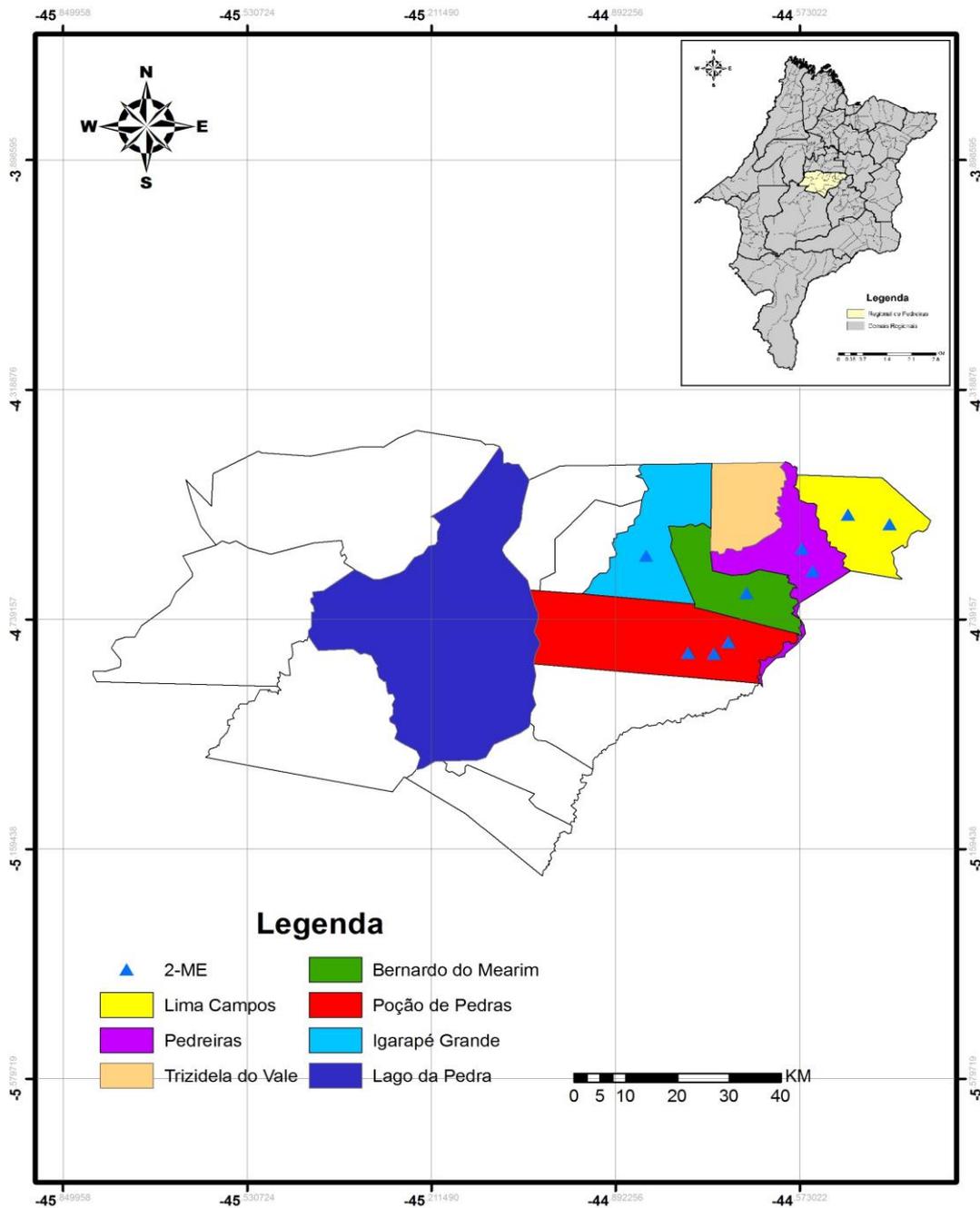
**Tabela 2.** Frequência de bovinos reagentes para brucelose nos testes AAT, 2-ME e TPF, por município da Regional de Pedreiras, MA, 2014

MUNICÍPIO	Nº ANIMAIS	REAGENTES					
		AAT	%	2-ME	%	TPF	%
Lago da Pedra	75	1	1,33	0	0	0	0
Igarapé Grande	75	1	1,33	1	1,33	1	1,33
Bernardo do Mearim	75	1	1,33	1	1,33	1	1,33
Poção de Pedras	75	9	12,00	9	12,00	8	10,66
Trizidela do Vale	75	0	0	0	0	0	0
Pedreiras	75	6	8,00	3	4,00	2	2,66
Lima Campos	75	8	10,66	3	4,00	1	1,33
<b>TOTAL</b>	<b>525</b>	<b>26</b>	<b>4,95</b>	<b>17</b>	<b>3,23</b>	<b>13</b>	<b>2,47</b>

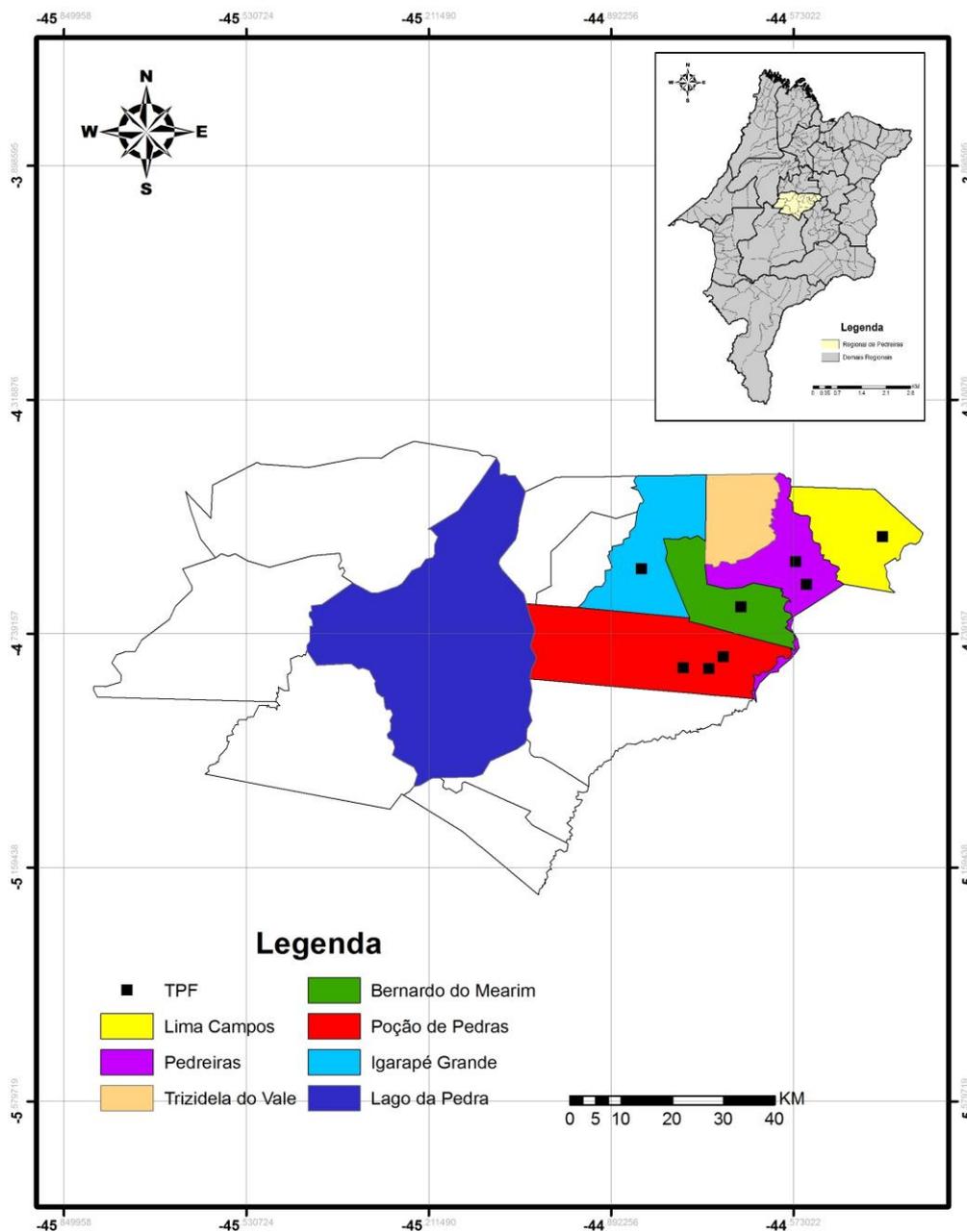
Nos 35 rebanhos bovinos leiteiros amostrados a frequência de foco de brucelose foi de 9/35 (25,71%) e 8/35 (22,85%) nos testes confirmatórios do 2-ME e TPF, respectivamente, conforme Tabela 3, Figura 3 e Figura 4.

**Tabela 3.** Frequência de foco de brucelose bovina de acordo com os testes do 2-ME e TPF, em rebanho leiteiro dos municípios da Regional de Pedreira, MA, 2014

MUNICÍPIO	REBANHO	FOCO			
		2-ME	%	TPF	%
Lago da Pedra	5	0	0	0	0
Igarapé Grande	5	1	20	1	20
Bernardo do Mearim	5	1	20	1	20
Poção de Pedras	5	3	60	3	60
Trizidela do Vale	5	0	0	0	0
Pedreiras	5	2	40	2	40
Lima Campos	5	2	40	1	20
<b>TOTAL</b>	<b>35</b>	<b>9</b>	<b>25,71</b>	<b>8</b>	<b>22,85</b>



**Figura 3.** Distribuição espacial dos rebanhos bovinos leiteiros foco de brucelose, de acordo com o teste 2-ME, nos municípios da Regional de Pedreira, MA, 2014



**Figura 4.** Distribuição espacial dos rebanhos bovinos leiteiros foco de brucelose, de acordo com o teste TPF, nos municípios da Regional de Pedreira, MA, 2014

Nos 07 municípios amostrados 05 apresentaram rebanhos com 01 ou mais animais reagentes nos testes confirmatórios o que representa uma proporção de 05/07 (71,43%) de municípios com rebanhos focos de brucelose. A frequência de animais soropositivos foi de 3,23% e 25,71% de rebanhos foco, no teste do 2-ME e de 22,85% no TPF (Tabela 3, Figuras 3 e 4). Estes achados foram superiores à prevalência de todo o Estado do Maranhão que é de 2,52%. Também foram superiores aos resultados dos circuitos pecuários maranhenses: circuito 01 (0,70%); 03 (1,99%) e 04 (0,76%). Porém, semelhante à prevalência identificada por Borba et al.,(2012) no circuito 02 (3,16%), onde está localizada a região estudada, o que sugere que neste circuito existe uma condição mais favorável para difusão da doença do que nos demais. Este resultado é devido, provavelmente, à baixa cobertura vacinal, pois somente 60% dos criadores realizam a vacinação, demonstrando que a brucelose bovina deve ser vista como um problema sério de saúde animal na região.

## 5.2 Frequência de brucelose em ordenhadores

Dos 60 hemossoros humanos examinados, distribuídos nos 07 municípios da regional, a frequência de reagentes nos ordenhadores foi de 01/60 (1,66%) no teste confirmatório 2-ME, conforme Tabela 4.

**Tabela 4.** Hemossoros de ordenhadores reagentes ao 2-ME na Regional de Pedreiras, MA, 2014

MUNICÍPIO	Nº DE AMOSTRAS	REAGENTES 2-ME	%
Lago da Pedra	12	1	8,33%
Igarapé Grande	8	0	0,00%
Bernardo do Mearim	8	0	0,00%
Poção de Pedras	9	0	0,00%
Trizidela do Vale	7	0	0,00%
Pedreiras	7	0	0,00%
Lima Campos	9	0	0,00%
<b>TOTAL</b>	<b>60</b>	<b>1</b>	<b>1,66%</b>

### 5.3 Fatores de risco associados à infecção da brucelose

Foram avaliados no modelo de regressão logística univariada (Tabela 5) variáveis qualitativas associadas à disseminação de brucelose nos rebanhos procurando-se associar os principais fatores com a presença de foco, sendo os mais frequentes: presença de ovinos (OR = 6,67; IC 95% [1,26- 35,03]); compras de animais para reprodução (OR = 4,08; IC 95% [0,70-23,50]); ocorrência de abortamentos nos últimos doze meses (OR = 2,81; IC 95% [0,59- 13,33]) e a presença de piquete maternidade como fator protetor (OR = 0,26; IC 95% [0,04- 1,63]), como apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5** - Variáveis qualitativas analisadas no estudo de fatores de risco para brucelose bovina na Regional de Pedreiras/MA, 2014

VARIÁVEL	REBANHO			
	FOCOS/EXPOSTOS	%	OR	p – VALOR
<b>INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL</b>				
SIM	0/5			
NÃO	9/30	30,00	-	-
<b>PRESENÇA OVINO</b>				
SIM	6/12	50,00		
NÃO	3/23	13,04	6,66	0,025
<b>PRESENÇA CAPRINO</b>				
SIM	½	50,00		
NÃO	8/33	24,24	3,12	0,439
<b>PRESENÇA EQUINO</b>				
SIM	9/28	32,14		
NÃO	0/7		-	-
<b>PRESENÇA SUÍNO</b>				
SIM	4/15	26,66		
NÃO	5/20	25,00	1,09	0,911
<b>PRESENÇA CÃO</b>				
SIM	6/25	24,00		
NÃO	3/10	30,00	0,73	0,714
<b>ANIMAIS SILVESTRES</b>				
SIM	0/1			
NÃO	9/34	26,47	-	-
<b>OCORRÊNCIA ABORTAMNETO 12 MESES</b>				
SIM	5/13	38,46		
NÃO	4/22	18,18	2,81	0,193

(Continua)

<b>DESTINO ANIMAIS ABORTARAM</b>				
SIM	6/24	25,00		
NÃO	3/11	27,27	0,88	0,886
<b>DESTINO FETO ABORTADO E PLACENTA</b>				
SIM	9/30	30,00		
NÃO	0/5		-	-
<b>REALIZA DIAGNÓSTICO BRUCELOSE</b>				
SIM	3/14	21,42		
NÃO	6/21	28,57	0,68	0,637
<b>COMPRA ANIMAIS REPRODUÇÃO</b>				
SIM	7/19	36,84		
NÃO	2/16	12,50	4,08	0,115
<b>VENDE ANIMAIS REPRODUÇÃO</b>				
SIM	4/11	36,36		
NÃO	5/24	20,83	2,17	0,334
<b>CONHECIMENTO SOBRE A DOENÇA</b>				
SIM	2/11	18,18		
NÃO	7/24	29,16	0,53	0,494
<b>VACINA CCONTRA BRUCELOSE</b>				
SIM	6/21	28,57		
NÃO	3/14	21,42	1,46	0,637
<b>EXISTÊNCIA PIQUETE MATERNIDADE</b>				
SIM	6/29	20,69		
NÃO	3/6	50,00	0,26	0,151
<b>PRESENÇA ÁREA ALAGADIÇA</b>				
SIM	9/29	31,03		
NÃO	0/6		-	-
<b>ALUGA PASTO NA PROPRIEDADE</b>				
SIM	4/19	21,05		
NÃO	5/16	31,25	0,58	0,494
<b>PRINCIPAL FONTE ÁGUA ANIMAIS</b>				
AÇUDE	9/33	27,27		
POÇO/RIO	0/2		-	-
<b>ASSISTÊNCIA VETERINÁRIA</b>				
SIM	2/8	25,00		
NÃO	7/27	25,92	0,95	0,958
<b>REALIZA CONTROLE REPRODUTIVO</b>				
SIM	2/11	18,18		
NÃO	7/24	29,16	0,53	0,494
<b>MANIPULA FÊMEAS DIFICULDADE PARTO</b>				
SIM	7/25	28,00		
NÃO	2/10	20,00	1,55	0,626

p < 0,20

(...continuação)

**Tabela 6.** Modelo de regressão logística univariada dos fatores mais associados à ocorrência de foco de brucelose bovina nos rebanhos amostrados na Regional de Pedreiras, MA, 2014

VARIÁVEL	REBANHO/PROPRIEDADE			
	FOCOS/EXPOSTOS	%	OR	p-valor
<b>Presença de ovinos</b>				
Sim	6/12	50,00		
Não	3/23	13,04	6,67	0,025
<b>Presença aborto nos últimos 12 meses</b>				
Sim	5/13	41,66		
Não	4/22	18,18	2,81	0,193
<b>Compra de animais para reprodução</b>				
Sim	7/19	36,84		
Não	2/16	12,50	4,08	0,115
<b>Presença de piquete maternidade</b>				
Sim	6/29	20,69		
Não	3/6	50,00	0,26	0,151

p < 0,20

No modelo de regressão logístico multivariado para focos de brucelose em propriedades foram incluídas as variáveis cujo p-valor foi menor que 0,05. O modelo final mostrou que propriedades com presença de ovinos (OR = 6,67; IC 95% [1,26-35,03]) apresentavam maiores chances de terem pelo menos um animal soropositivo para a brucelose bovina no rebanho, como apresentado na Tabela 7.

**Tabela 7** - Análise multivariada dos fatores de risco para ocorrência de foco de brucelose bovina nos rebanhos estudados na Regional de Pedreiras, MA, 2014

VARIÁVEL	PROPRIEDADE		
	OR	IC 95%	p-valor
Presença de ovinos na propriedade	6.67	1,27 – 35,03	0,025

p < 0,05

Os animais positivos para brucelose foram separados e afastados dos animais de produção, marcados a ferro candente com a marca “P” dentro de um círculo no lado direito da face, encaminhados para abate sanitário em estabelecimentos com Inspeção Veterinária, num prazo máximo de 30 dias, acompanhados da GTA e informação da condição de positivo em atendimento à legislação vigente.

As informações obtidas nas propriedades amostradas através da aplicação do questionário epidemiológico permitiram caracterizar a Pecuária Leiteira na Regional

de Pedreiras, onde a raça predominante é o Girolando (100%) com diferentes graus de consanguinidade; o tipo de criação é semiconfinamento (100%), o que pode ter favorecer a ocorrência e disseminação da doença devido o aumento da proximidade entre animais infectados e suscetíveis, conforme também atestam Nicoletti (1980) e Crawford et al.,(1990); as vacas são ordenhadas 01 vez ao dia (100%), o tipo de ordenha é manual com bezerro ao pé (100%), podendo esta estar correlacionada com a transmissão da brucelose pois a bactéria é eliminada pelo leite e terneiros que ingerem leite de vacas brucélicas podem contaminar o meio ambiente pela eliminação de bactérias junto com as fezes, pois nem todas são destruídas pelas enzimas digestivas (LUCAS, 2006) e existência comprovada de transmissão vertical em bovinos (CORRÊA & CORRÊA, 1992). Para Tenório (2008) há uma associação significativa entre a ocorrência de brucelose e a ordenha manual.

A média de vacas em lactação é 22 por propriedades, com produção média diária de 98 litros de leite. Isto leva a pressupor que o rebanho é pequeno, pouco tecnificado e os animais são submetidos às mesmas condições de manejo, ou seja, expostos aos mesmos fatores de risco. Idade  $\geq$  36 meses em ambos os sexos foi fator determinante para ocorrência da infecção nos dois testes confirmatórios, devido provavelmente a um maior tempo de exposição ao agente infeccioso, aumentando a probabilidade de disseminação da bactéria e ao adquirir imunidade não mais apresenta o principal sintoma clínico da doença que é o aborto entre o quinto e oitavo mês de gestação.

Em situações de prevalência alta, segundo Paulim & Ferreira Neto (2003), a cobertura vacinal mínima anual deve ser de 80%, a fim de que a doença seja reduzida a níveis de 2% de prevalência. Para Amaku et al., (2009) coberturas vacinais acima de 70%, o tempo para reduzir a prevalência da brucelose a 2% é da ordem de 10 anos.

A frequência de brucelose bovina na Regional de Pedreiras apresentou-se ligeiramente abaixo de estudos sorológicos oficiais de prevalência realizados no Brasil, no período de 1988 a 1998, que variaram de 4% a 5 % (BRASIL, 2006; POESTER et al., 2002). Apresentou-se também inferior à encontrada por Minervino et al.,( 2011), no Estado do Pará (10,92%); por Negreiros et al.,(2009) em Mato Grosso (10,2%), por Chate et al., (2009) no Mato Gosso do Sul (7,93%); por Villar et

al., (2009) em Rondônia (6,22%); Ogato et al., (2009) em Tocantins (4,43%) e por Klein-Gunnewiek et al., (2009), no Rio de Janeiro (4,08%) .

Resultados semelhantes aos da pesquisa foram observados em bovinos no Estado de São Paulo (3,81%) por Dias et al., (2009); em Sergipe (3,36%), por Silva et al., (2009); no Espírito Santo (3,53%), por Azevedo et al., (2009); em Goiás (3,01%), por Rocha et al., (2009); em Itirapuã/SP (3,20%), por Medeiros et al., (2011); em Alegre/ES (3,25%), por Viana et al., (2009) e na Microrregião de Araguaína/TO (3,8%), por Ramos et al., (2010).

Prevalências inferiores foram evidenciadas no Estado do Paraná (1,73%), por Dias et al., (2009); em Minas Gerais (1,09%), por Gonçalves et al., (2009); no Rio Grande do Sul (1,02%), por Marvulo et al., (2009); na Bahia (0,66%), por Alves et al., (2009); no Distrito Federal (0,16%), por Gonçalves et al., (2009) e em Santa Catarina (0,06%), por Sikusawa et al., (2009).

No Maranhão, resultados semelhantes foram encontrados por Akashi (1988), em Imperatriz/MA (3,24%) e por Prazeres (2009), em São Francisco do Brejão/MA (3,94%). Mas, superiores aos evidenciados por Moura (2008), em São Domingos do Maranhão (2,50%), aos achados de Santana (2010), na Regional de Balsas (0,51%) e inferiores aos encontrados por Santos et al., (2007) em São Luís/ MA (5,97%) e aos de Cunha (2012), em três municípios da Regional de Itapecuru (21,83%), bovinos reagentes.

Quanto à prevalência de focos de brucelose, em rebanhos com pelo menos um animal soropositivo, o resultado encontrado na Regional de Pedreiras é superior aos da Bahia (4,2%), por Alves et al., (2009); aos do Distrito Federal (2,52%), por Gonçalves et al., (2009); aos do Espírito Santo (9,0%), por Azevedo et al., (2009); aos do Goiás (17,54%), por Rocha et al., (2009); aos de Maranhão (11,42%), por Borba et al., (2012); aos de Minas Gerais (6,09%), por Gonçalves et al., (2009); aos do Paraná (4,02%), por Dias et al., (2009); do Rio de Janeiro (15,42%), por Klein-Gunnewick ; do Rio Grande do Sul (2,06%), por Marvulo et al., (2009); de Santa Catarina (0,32%), por Sikusawa et al., (2009); de São Paulo (9,7%), por Dias; de Sergipe (12,6%), por Silva et al., (2009) e da Região do Cerrado Maranhense (2,53%), por Santana (2010). E semelhantes aos encontrados na Regional de Itapecuru (25,83%), por Cunha (2012) e aos do Estado do Tocantins (21,22%), por Ogata et al., (2009).

Contudo, a prevalência de focos de brucelose bovina encontrada no estudo foi inferior às observadas nos Estados do Mato Grosso do Sul (41,5%), por Chate et al., (2009); em Mato Grosso (41,2%), por Negreiros et al.,(2009); em Rondônia (35,18%), por Villar et al., (2009) e à encontrada no Município de São Francisco do Brejão/MA (30,43%), por Prazeres (2009).

No Teste de Polarização Fluorescente (TPF), as frequências de animais soropositivos e de rebanhos foco foram 2,47% e 22,85%, respectivamente. Entretanto, devido à escassez de literaturas utilizando este teste não foi possível correlacionar com outros trabalhos. Porém se compararmos os resultados com outros testes pode-se afirmar que a frequência encontrada está dentro da média de prevalências nacionais e internacionais.

Vale ressaltar que, a Inseminação Artificial é realizada em apenas 5/35 (14,28%) das propriedades amostradas e não se constituiu fator de risco. Na grande maioria das propriedades o uso exclusivo da monta natural não é um fator de risco entre os animais, embora os touros possam eliminar *Brucella* no sêmen, as fêmeas apresentam mecanismos naturais de defesas na vagina (MONTEIRO et al., 2006). Porém, se a Inseminação Artificial for realizada com sêmen de touros infectados então esta via de transmissão torna-se uma importante e eficiente forma de difusão da brucelose nos plantéis (ACHA E SZYFRES, 2001; PAULIM & FERREIRA NETO, 2003).

Um fato preocupante é a comercialização de sêmen das conhecidas “centrais caseiras”, isto é, propriedades que produzem e vendem sêmen sem realizar o controle sanitário dos touros doadores. Estudo realizado no Estado do Espírito Santo por Azevedo et al., (2009) mostrou que propriedades que utilizavam inseminação artificial tinham 7,05 vezes mais chances de apresentarem foco de brucelose. Portanto deve-se adquirir sêmen somente de centrais de inseminação que possuem um rigoroso controle sanitário dos touros.

A presença simultânea de outras espécies domésticas nas propriedades como: caprinos 2/35 (5,71%); equinos 28/35 (80%); suíno 15/35 (42,85%) e cães 25/35, (71,43%) não apresentaram significância estatística ( $p > 0,20$ ). Embora os cães possam participar indiretamente na epidemiologia da brucelose bovina (NICOLETTI, 1980; FORBES, 1990), carreando produtos de abortamentos pelas

pastagens e até mesmo entre fazendas, contribuindo para a disseminação da infecção (VASCONCELLOS et al.,1987).

Quanto à presença de ovinos, esta espécie 12/35 (34,29%) foi estatisticamente significativa no estudo, tanto no modelo de regressão logística univariada ( $p < 0,20$ ) quanto na multivariada ( $p < 0,05$ ), gerada para identificação dos fatores de risco, demonstrando que propriedades com a presença de ovinos apresentavam 6,67 vezes mais chances de ser foco de brucelose. Entretanto deve-se analisar este resultado com cautela, pois são propriedades onde os animais são criados em consórcio, muitas vezes permanecendo juntos também no curral e onde há uma intensa movimentação de animais, conforme informações colhidas nas fichas cadastrais da AGED/MA. Também a presença de ovinos nas propriedades demonstrou significância estatística ( $p < 0,20$ ) podendo estar associada ao diagnóstico de brucelose nos rebanhos, dado que corrobora com Prazeres (2009). Holt et al.,(2011) destacam a importância da criação de bovinos e búfalos em conjunto com ovinos e caprinos (OR = 6,32; IC 95% [1,44 – 27,9] ) no aumento do risco para brucelose bovina na localidade de Menufiya Governorate, no Delta do Nilo, Egito.

Somente uma propriedade amostrada 01/35(2,85%) relatou a existência de animais silvestres (cervídeos) e esta variável não apresentou significância estatística. Entretanto, no Estado de Minas Gerais, Gonçalves et al.,(2009) citam que a presença de cervídeos foi um fator de risco (OR = 1,56 [1,08 – 2,27]).

Cervídeos e capivaras são espécies biunguladas e se constituem em reservatórios naturais da *B. abortus* e têm um papel importante na cadeia epidemiológica da doença, por serem mantenedores do agente no ambiente silvestre (PAULIN & FERREIRA NETO, 2002 ; PAULIN, 2003).

A ocorrência de aborto nos últimos 12 meses foi relatada em 13/35 (37,14%) das propriedades pesquisadas e demonstrou ser um fator de risco (OR = 2,81; IC 95% [0,59- 13,33]). O que corrobora com os resultados encontrados por Santana (2010), (OR=9,06); por Rocha et al.,(2009) (OR=5,83); por Negreiros et al.,(2009) (OR = 1,7); por Villar et al.,(2009) (OR= 1,42) e por Marvulo et al., (2009) (OR = 3,27). A ocorrência é sugestiva de infecção, pois aborto é o principal sinal clínico da doença na espécie bovina (ACHA & SZYFRES, 2001) e indica que a brucelose é endêmica no rebanho.

Outro fator preocupante é que 24/35 (68,57%) das propriedades amostradas não separam e deixam no plantel os animais que abortaram, aumentando com esta prática o risco de disseminação da doença dentro do rebanho, pois não eliminam os animais positivos. Quanto mais rápido os animais infectados forem separados dos animais negativos ao diagnóstico, mais eficiente será o controle. No caso de bovinos de leite, estes devem ser imediatamente retirados da ordenha, para se diminuir riscos para a saúde pública (LAGE et al., 2005).

Somente 14,28% dos entrevistados afirmaram que dão um destino adequado à placenta e feto abortado (enterram, jogam em fossa ou queimam), conduta que diminui o risco de contaminação ambiental e o contato destes materiais biológicos com animais suscetíveis, medidas de controle também recomendada por Crawford et al., (1990). Para Prazeres (2009) propriedades com bovinos que deixam restos placentários abortados no pasto tem cinco vezes e meia mais chances de ser foco de brucelose.

A compra de animais para reprodução (machos e fêmeas) apresentou significância estatística ( $p < 0,20$ ) na análise univariada dos fatores de risco para foco de brucelose nos rebanhos, (OR = 4,08; IC 95% [0,70-23,50]). A compra é feita principalmente de outras fazendas e na sua grande maioria não é exigido o exame sorológico negativo para brucelose e também não se conhece o estado sanitário do rebanho de origem. Resultados semelhantes foram encontrados no Estado da Bahia (OR = 2,27) por Alves et al., (2009); no Goiás (OR = 2,06) por Rocha et al., (2009); em Minas Gerais (OR = 1,66) por Gonçalves et al., 2009); no Paraná (OR = 2,20) por Müller et al., (2009); no Rio de Janeiro (OR = 1,95) por Klein-Gunnewiek et al., (2009) e em São Paulo (OR = 1,56) por Dias et al., 2009).

De acordo com Striger et al. (2008), a aquisição de animais infectados é relatada como principal fator de introdução de brucelose em rebanhos livres. Dentro desta variável, alguns fatores atuam independentes ou correlacionados, como: frequência de compra (prática comum em rebanhos leiteiros da região para aquisição de reprodutores e reposição de matrizes), origem dos animais e histórico de realização de testes sorológicos para brucelose, observações também relatadas por Nicoletti (1980); Crawford et al., (1990); Lage et al., (2008). É importante frisar que a introdução de animais significa risco real somente quando realizada sem os devidos cuidados sanitários recomendados pelo PNCEBT.

A vacinação contra brucelose neste estudo não apresentou significância estatística na análise univariada ( $p > 0,20$ ), modelo de regressão logística. Esta variável foi considerada fator de proteção no Estado da Bahia (OR = 0,53) conforme Alves et al.,(2009); no Espírito Santo (OR = 0,03) de acordo com Azevedo et al., (2009); em Minas Gerais (OR = 0,38), segundo Gonçalves et al., (2009) e no Tocantins (OR = 0,37) citado por Ogata et al.,(2009). Demonstrando assim que, a vacinação realizada em bezerras entre 3 a 8 meses, com a amostra B19 comercializada no Brasil, realmente protege o animal em situação de campo, há eficiência de cobertura vacinal e o programa de vacinação proposto pelo PNCEBT tem surtido efeito positivo no controle da brucelose. Porém no Estado de Goiás a prática da vacinação apresentou-se como fator de risco (OR = 2,07) conforme afirma Rocha et al.,( 2009).

A não proteção da vacina acontece quando os animais vacinados já estão infectado, já abortaram ou porque os testes sorológicos foram positivos. Embora a vacinação de bezerras contra a brucelose no Maranhão seja obrigatória (Portaria Estadual Nº 038/2008, de 03 de março de 2008 da AGED/MA), esta legislação não vem sendo cumprida em todos os municípios do Estado. Outra medida importante foi a publicação da Portaria nº 014/2010, de 19 de janeiro de 2010, da AGED/MA que disciplina o trânsito de bovinos e bubalinos em relação à vacinação contra brucelose em todo território maranhense, qualquer que seja a finalidade.

Do total de entrevistados 24/35(68,57%) responderam não ter conhecimento sobre a doença, o que pode contribuir para a disseminação da enfermidade nos rebanhos, por não saberem adotar as práticas de manejo sanitário recomendadas pelo PNCEBT nos rebanhos foco para brucelose. Ressalta-se ainda o potencial risco zoonótico da enfermidade para pessoas que lidam diretamente com animais infectados e indiretamente com produtos de origem animal contaminado.

A variável existência de piquete maternidade apresentou-se como fator de proteção de foco de brucelose, (OR = 0,26; IC 95% [0,04-1,63]). Resultado semelhante foi encontrado no Estado do Tocantins (OR = 0,72) por Ogata et al., (2009).

O piquete de parição é uma medida simples que pode ser implantada objetivando a ausência de contato de animais suscetíveis com fetos abortados, restos placentários e secreções vaginais (elevada concentração de *Brucella* )

provenientes de animais infectados, que podem contaminar pastagens e aguadas. É um procedimento que diminui a dose desafio e interrompe o ciclo de transmissão da doença afirma Crawford et al., (1990).

Ainda que o aluguel de pasto em áreas alagadiças nas propriedades amostradas, na ordem de 29/35 (82,85%) e 19/35(54,28%), não tenham sido estatisticamente significantes ( $p > 0,20$ ), estas variáveis não podem ser excluídas dos fatores de risco. Trabalho realizado por Alves et al.,(2009) demonstram que propriedades com áreas alagadiças tem 1,76 vezes mais chances de ser foco de brucelose. Já Dias et al.,(2009); Klein-Gunnewiek et al. (2009) citam que propriedades que alugam pastos apresentam 2,45 e 1,74 vezes mais chances de serem foco da doença. Ainda segundo Crawford et al.,(1990) ; Paulim & Ferreira Neto (2003) essas práticas podem favorecer o contato de animais com ambientes previamente contaminados com produtos de aborto e, dependendo das condições do meio-ambiente a bactéria pode permanecer viável por até 180 dias .

Segundo Lage et al., (2008) a sobrevivência da *B. abortus* no ambiente é aumentada pela presença de umidade, temperatura e sombreamento e quanto maior for sua sobrevivência nestes locais, maior a probabilidade do agente contaminar outras espécies suscetíveis. Vale ressaltar que, observou-se uma maior concentração de animais nos entornos dos açudes 33/35 (94,28%) é a principal fonte de água para os animais nas propriedades amostradas. Também a presença de rebanhos próximos de áreas alagadiças, bebedouros, rios e igarapés aumenta o contato entre os mesmos e favorece a disseminação da brucelose.

Referente ao quesito assistência veterinária 27/35 (77,14%) dos proprietários entrevistados não possuem este tipo de assistência, fato que é preocupante, pois a probabilidade de infecção em rebanhos sem assistência técnica é maior, pois não há boas práticas agropecuárias incluindo o manejo correto de fetos abortados, de restos placentários, vacinações, realização de testes sorológicos, identificação e separação com destino adequado dos animais infectados, quarentena quando da aquisição de animais e desinfecção de instalações e do ambiente, o que diminuem consideravelmente o risco da doença.

Entretanto, Silva et al.,(2009) no Estado de Sergipe demonstrou que assistência veterinária aumentou o risco de brucelose no rebanho (OR = 2,28), o que parece um contra-senso. Tal fato é explicado pelo hábito dos pecuaristas em

contratar serviços veterinários somente após a constatação de transtornos reprodutivos, comumente correlacionados com a infecção brucélica. Portanto, a assistência veterinária é uma consequência, não uma causa da presença da doença.

O controle reprodutivo não é realizado em 24/35 (68,57%) das propriedades amostradas, o que prejudica o controle do período de gestação; da data de parição; do nascimento de bezerros fracos; do aumento do período de serviço devido ao atraso na involução uterina, em virtude de endometrite ou metrite ocasionada pela retenção de placenta. Interfere ainda no acompanhamento do ciclo normal das fêmeas ou repetições de cios em decorrência de abortos, que podem estar associados com a brucelose no rebanho; e até mesmo a idade correta das bezerras, correndo o risco de serem vacinadas além da idade recomendada e haver interferência no resultado sorológico da doença.

Outro aspecto preocupante refere-se ao risco zoonótico que a brucelose representa, pois 25/35 (71,43%) dos entrevistados afirmaram que manipulam fêmeas com dificuldades de parição, não têm conhecimento das manobras obstétricas, não usam equipamentos de proteção individual, estando expostos à infecção, podendo o risco ser caracterizado pelo contato direto de abrasões da pele com tecidos de animais infectados ou por via respiratória, pela inalação de aerossóis, conforme asseveram Ferraz (1999); Doganay & Aygen (2003); Franzolin, (2005).

Ressalta-se ainda que, aborto é o principal sintoma clínico da brucelose somente nas primeiras gestações, pois o animal adquire imunidade e pode não mais abortar nas gestações subsequentes. De onde se infere que a manipulação sem uso de EPI torna-se uma via potencial de transmissão da brucelose para o homem.

A frequência de brucelose humana obtida em ordenadores na Regional de Pedreiras foi de 1,66%, no teste confirmatório do 2-ME. Resultados semelhantes foram encontrados por Schein et al. (2004), no Município de Araputanga/MT, onde encontrou prevalência de brucelose de 2,6% em trabalhadores de fazendas leiteiras e observou associação entre a brucelose humana e a presença de bovinos reagentes nas propriedades ( $p < 0,05$ ). Também Coêlho et al., (1995), no Município de São Luís, constataram 2,17% dos trabalhadores de matadouros reagentes na prova de FC. Já Tenório et al., (2008) diagnosticaram brucelose em 1,8% dos

moradores da zona rural de Correntes/PE, no teste do AAT e Cunha (2012), na Regional de Itapecuru-MA identificou 2,56% dos trabalhadores de fazendas reagentes para brucelose.

Por outro lado, prevalências superiores (10,17%) foram encontradas no Município de São Luís por Lacerda et al.(2000) e por Santos et al.,(2007) em funcionários de matadouros, na prova de FC e no teste do 2-ME, respectivamente. Sendo observada maior ocorrência de pessoas reagentes nos setores de matança e evisceração.

É significativa a frequência encontrada para brucelose bovina em rebanhos foco (25,71%) e em animais soropositivos (3,23%), na região amostrada. O que propicia uma situação potencialmente grave, com a coexistência de fatores que colocam em perigo a saúde, principalmente das pessoas que habitam no ambiente agropecuário estudado.

Quanto à investigação de possíveis fatores de risco na transmissão da brucelose bovina para os ordenadores, a maioria encontra-se exposto ao agente etiológico da brucelose bovina.

Dos 60 ordenhadores entrevistados 100% são do sexo masculino; 27/60 (45%) têm mais de 40 anos e 49/60 (81,66%) possuem como grau de escolaridade o ensino fundamental incompleto.

Quanto ao tempo de serviço como tratador, 90% dos entrevistados afirmaram ter mais de 4 anos, podendo durante este período o funcionário estar exposto por um longo tempo ao agente infeccioso, nos rebanhos problemas.

Quando questionados sobre a sintomatologia clínica da brucelose 50/60 (83,33%) dos ordenhadores afirmaram ter apresentado um ou mais dos seguintes sintomas: febre, dor de cabeça, cansaço, insônia, calafrios, sudorese noturna, mialgia e artralgia. O funcionário que foi reagente relatou ainda, apresentar dores testiculares, irritabilidade e nervosismo, sinais estes, compatíveis com a brucelose (ACHA & SZYFRES, 2001).

Outra situação grave constatada é que 44/60 (73,33%) dos entrevistados manipulam vacas com dificuldade ao parto, sem uso de EPI, mantendo contato com secreções (fetos abortados, restos placentários e secreções vaginais), um importante fator de risco à saúde das pessoas principalmente em rebanhos infectados, riscos também relatados por Vasconcelos (2003).

Abordados se tem ou tiveram o hábito de ingerir leite cru 48/60(80%) dos tratadores afirmaram que sim. Esta é uma real exposição, pois *Brucella* spp pode ser isolada do leite de vacas positivas (LANGONI et al.,2000). Embora o processo de pasteurização do leite elimine as células viáveis, a doença ainda se transmite para a população humana por este via (CARTER & CHENGAPPA, 1991).

Quando questionados se já realizavam vacinação contra brucelose 20/60 (33,33%) disseram já terem vacinado, sem terem passado por algum treinamento prévio realizado pelo veterinário cadastrado e bem como vacinaram sem uso de EPIs. Fato relevante, pois as amostras vacinais B19 e RB 51 de *B.abortus*, são potencialmente patogênicas para humanos, podendo ocorrer autoinfecção ao se trabalhar com vacinas vivas (BERKELMAN, 2003; MATHIAS, 2008). Principalmente pela exposição acidental ao líquido contido no frasco e perfuração do dedo com a agulha durante a aplicação.

De acordo como o Sistema de Informações Hospitalares do SUS - SIH/SUS do Ministério da Saúde, de janeiro de 2008 a março de 2014 ocorreram 177(cento e setenta e sete) internações devido à brucelose, no âmbito do SUS, sendo 62 (sessenta e duas) na Região Sul, 54 (cinquenta e quatro) na Região Sudeste, 27 (vinte e sete) na Região Nordeste, 23 (vinte e três) na Região Norte e 11(onze) na Região Centro-Oeste. A média de dias de internação por brucelose no Brasil, neste período foi de 9,5 dias. Com relação ao número de óbitos ocorreram 08 (oito) durante este período, sendo 05 (cinco) Região Sul, 02 (dois) na Região Nordeste e 01 (um) na Região Sudeste (BRASIL, 2014),

Ressalta-se que a brucelose humana por ser de difícil diagnóstico é uma doença subnotificada e de pouca visibilidade pelas autoridades sanitárias no Brasil.

#### 5.4 Comparação dos testes confirmatórios

Das 26 amostras séricas de bovinos leiteiros examinados e reagentes no teste de triagem do antígeno acidificado tamponado (AAT), 17 (65,38%) e 13 (50,00%) apresentaram resultados positivos no 2-ME e TPF, respectivamente. Quando comparado os resultados constatou-se que o Teste de Polarização Fluorescente (TPF) mostrou boa concordância com o teste 2-Mercaptoetanol (2-ME), quando avaliado pelo indicador de concordância ajustada Kappa ( $K = 0,69$ ), com

sensibilidade, especificidade e acurácia de 76,47%, 100% e 84,62%, respectivamente, conforme Tabela 8. Para realização do cálculo adotou-se o programa de estatística (OpenEpi versão 2.2.3/2010).

O Valor Preditivo Positivo (VPP) do teste foi de 100% e o Valor Preditivo Negativo (VPN) igual a 69,23%.

**Tabela 8.** Eficácia dos testes confirmatórios TPF e 2-ME usados para pesquisa de aglutininas anti-*Brucella abortus* em soros bovinos leiteiros na regional de Pedreiras, MA, 2014

2-ME	TPF		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	13	4	17
Negativo	0	9	09
Total	13	13	26

Sensibilidade = 76,47%, Especificidade = 100%, Acurácia do Diagnóstico = 84,62%

Em um teste diagnóstico sua validade pode ser estimada com base nos valores de sensibilidade e especificidade, ou seja, seus valores intrínsecos. Sensibilidade é definida como o percentual de verdadeiros positivos identificados no teste enquanto especificidade é a dos verdadeiros negativos (SANTOS, 2010). Diante do exposto, o TPF é útil para o diagnóstico da brucelose bovina no Brasil, principalmente por adotar a vacinação com a amostra B19, fator reconhecido como causa frequente de resultados falso-positivos, uma vez que o teste é menos sujeito à influência de anticorpos vacinais, apresentando melhor especificidade que os testes convencionais para o diagnóstico em animais vacinados. O teste é fácil, rápido e bastante confiável. Uma desvantagem é o custo do equipamento e dos reagentes, o que o torna mais caro que os testes adotados pelo PNCEBT (MATHIAS et al., 2010).

## 6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que:

- As frequências de animais soropositivos e de rebanho foco para brucelose na Regional de Pedreiras é elevada, principalmente no Município de Poção de Pedras;
- O principal fator de risco associado à presença de foco no rebanho foi a criação consorciada de bovinos com ovinos;
- A existência de piquete maternidade nas propriedades demonstrou ser um fator de proteção;
- A Regional de Pedreiras apresenta baixa cobertura vacinal, intensa aquisição de animais para renovação do plantel e reprodução, sem exigir o diagnóstico negativo para brucelose;
- Há pouco conhecimento dos produtores sobre a enfermidade e nas propriedades não há assistência veterinária;
- A população humana da regional encontra-se exposta à infecção por *B. abortus*;
- Foi detectado aglutina anti-*Brucella abortus* em um ordenhador na região estudada;
- Não houve diferença estatística nos resultados obtidos entre os testes confirmatórios do 2-ME e TPF.
- Houve boa concordância no que se refere à sensibilidade e especificidade do teste confirmatório TPF com 2-ME.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como sugestão para melhorias da sanidade bovina da regional de Pedreiras recomenda-se:

- ✓ Aumentar a cobertura vacinal anual de bezerras entre 3 a 8 meses, com a estirpe B19, para taxas > 80% e estimular o uso da vacina RB 51 nos rebanhos foco para brucelose, imunizando a população adulta e alcançando boas coberturas vacinais mais rapidamente;
- ✓ Realizar uma investigação soro epidemiológica para *Brucella abortus* e *Brucella ovis* em ovinos na região, objetivando melhor caracterizar a forma como se dá o contato entre bovinos e ovinos, e se estes estão efetivamente atuando como reservatório da brucelose bovina;
- ✓ Orientar os criadores quanto à construção de piquetes maternidades;
- ✓ Conscientizar os produtores e ordenhadores sobre a importância de adotarem boas práticas de manejo sanitário e alerta-los sobre o perigo da criação consorciada com outras espécies de animais domésticos;
- ✓ Implantar o Teste do Anel em Leite (TAL) para detecção precoce de rebanhos infectados na 3ª maior bacia leiteira do estado, seguido do exame sorológico individual, identificação e eliminação dos animais positivos;
- ✓ Realizar Educação Sanitária para sensibilizar todos os setores das indústrias de lácteos, carnes, produtores, sindicatos, governos e o Fundepec visando criar mecanismos de indenizações e incentivos à adesão de criadores para certificação de propriedades livres de Brucelose no Estado do Maranhão. O que é um obstáculo em rebanhos pequenos e pouco tecnificado;
- ✓ Promover ações interativas entre os gestores das Secretarias de Saúde e dos Órgãos de Defesa Sanitária Animal com vistas ao bem estar da Saúde Pública de todos os atores desta cadeia tão produtiva da bovinocultura leiteira da regional de Pedreiras;

- ✓ Depreende-se que medidas de controle e erradicação da enfermidade nos animais são de suma importância para que haja a diminuição da incidência da doença no homem.
- ✓ O TPF tem utilidade como teste confirmatório no PNCEBT.

## REFERÊNCIAS

ALVES,A.J.S.;GONÇALVES,V.S.P.;FIGUEIREDO,V.C.F.;LÔBO,J.R.;BAHIENSE,L;A MAKU,M.;FERREIRA,F;FERREIRA NETO,J.S.;DIAS. R.A. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Bahia. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.6-13, 2009.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales:** Bacterioses and Mycoses.3.ed.Washington: Organizacion Panamericana de la Salud , 2001. p.28-55.

AGÊNCIA ESTADUAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO MARANHÃO. Coordenadoria de Defesa Animal. Programa de Prevenção e Erradicação da Febre Aftosa. **Efetivo de bovídeos leiteiros do Estado do Maranhão.** Jun.2012.

\_\_\_\_\_. **Portaria nº 038, de 03 de março de 2008.** Instituí no Estado do Maranhão a vacinação contra brucelose para fêmeas das espécies bovinas e bubalinas.

\_\_\_\_\_. **Portaria nº 014, de 19 de janeiro de 2010.** Disciplina o trânsito de bovinos e bubalinos em relação à vacinação contra brucelose em todo território maranhense.

\_\_\_\_\_. Coordenadoria de Defesa Animal. Programa de Prevenção e Erradicação da Febre Aftosa. **Estratificação do rebanho bovino leiteiro da Regional de Pedreiras.** Jun. 2012. (Relatório final da 1ª etapa de vacinação dos bovinos contra febre aftosa no Maranhão).

AKASHI, R. S. de B. **Brucelose: prevalência bovina e humana nos matadouros do município de Imperatriz - MA.** 1998. 42p. Curso de Especialização em Inspeção Sanitária e Industrial dos alimentos de origem animal (Monografia) Universidade Estadual do Maranhão. 1998.

AL-ANI. F.K. Human and animal brucellosis in Jordan between 1996 and 1998: a study. **Rev. Sci. Tech. Off. int. Epiz.**, v.23, n.3, p.831-840, 2004.

AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA NETO, J.S.; FERREIRA F. Modelagem matemática do controle de brucelose bovina por vacinação. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.61, supl.1, p.135-141,2009.

AZEVEDO,S.S;FERREIRANETO,J.S.;DIAS,R.A.;FERREIRA,F.;AMAKU,M;.FIGUEIREDO,V.C.F.;LÔBO,J.R.;GONÇALVES,V.S.P.;SOUZA,A.C.;VASCONCELLOS,S.A.Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Espírito Santo. **Arq. Bras. Med.Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.19-26, 2009.

BAUMGARTEN, D. Brucellosis: a short review of the Disease situation in Paraguay. **Vet. Microb.**,v.90, p.63-69, 2002.

BATHKE, W. Brucellosis. In: BEER, J. (Ed.). **Doenças infecciosas em Animais domésticos**: doenças causadas por vírus, clamídias, rickettsiose, Micoplasmose. São Paulo: Roca. v.2, p.144-160.1988.

BERKELMAN, R.L. Human illness associated with use of veterinary vaccines. **Clin. Infect. Diseases**, Chicago, v.37, p.3, p.407- 424, 2003.

BERNUÉS, A.; MANRIQUE, E.; MAZA, M.T. Economic evaluation of bovine brucellosis and tuberculosis eradication programmes in a mountain area of Spain. **Prev Vet Med**, v.30, p.137-149, 1997.

BISHOP, G.C.; BOSMAN, P.P.; HERR, S. Bovine brucellosis. In: COETZER, J.A.N.; THOMSON, G.R.; TUSTIN, R.C. (Eds.). **Infectious diseases of livestock**. Austin: Texas A&M University Press, College Station, 1994. v.2, p.1053-1066.

BOLETIM DE DEFESA SANITÁRIA ANIMAL. **As doenças dos animais no Brasil**: histórico das primeiras observações. Brasília, 1988. 101p. Número especial.

BORBA, M.R.; STEVENSON, M.A.; GONÇALVES, V.S.P. ; FERREIRA NETO, J.S.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; TELLES, E.O.; SANTANA, S.S. ; FERREIRA, J.C.A.; LÔBO, J.R.; FIGUEIREDO, V.C.F.; DIAS, R.A. Prevalence and risk-mapping of bovine brucellosis in Maranhão State, Brazil. **Prev. Vet. Med.** v. , n. , p.1-8, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Diagnóstico de Saúde Animal**. Brasília, 1977.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 2 de 10 de janeiro de 2001. Institui o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 10 jan. 2001, Seção 1, 2001 c.

\_\_\_\_\_. Secretaria de Defesa Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 6 de 8 de janeiro de 2004. Aprova o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 12 jan. 2004, Seção 1, p. 6-10. 2004.

\_\_\_\_\_, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT)**. Brasília: MAPA/SDA/DAS, 2006.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 27 de 20 de Outubro de 2010. Aprovar o Teste de Polarização Fluorescente - TPF para utilização pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal, no diagnóstico da brucelose bovina e bubalina. **Diário Oficial da União**, Brasília, 22 out. 2010, Seção 1.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 50 de 24 de setembro de 2013**. Altera a lista de doenças passíveis da aplicação de medidas de defesa sanitária animal e de notificação obrigatória ao serviço veterinário oficial.

BRASIL, Ministério da Saúde, **DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS**: guia de bolso/ Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. -8. ed.rev.-Brasília: ministério da saúde, 2010.

\_\_\_\_\_, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, IBGE, 2012. Disponível em: [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). Acesso em: 15. Abril. 2014.

\_\_\_\_\_, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, 2012. Disponível em: <https://www.embrapa.br/>. Acesso em: 20. Abril. 2014.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Morbidade do SUS por local de residência: lista morbidade CID-10: Brucelose**. Internações, Óbitos e Média de permanência em internação por ano processamento segundo Região. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/nruf.def>>. Acesso em: 26 jun. 2014.

BREW, S.D.; PERRETT, L.L.; STACK, J.A. et al. Human exposure to *Brucella* recovered from a sea mammal. **Vet. Rec.**, v.144, p.483, 1999.

CAMARGO, S.C.A. Aglutininas Anti-*Brucella sp* em Hemo-Soros Humanos em Matadouro sob Serviço de Inspeção Municipal em São Luís-MA. 2005. 35f. **Monografia** (Graduação em Medicina Veterinária). Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2005.

CAMPERO, C.M. Brucelosis en toros: una revisión. **Rev. Med. Vet.**, v.74, p.8-14, 1993.

CARMICHAEL, L.E.; Bruner, DW. Characteristics of a new species of *Brucella* responsible for infectious canine abortions. **Cornell Vet.**, v. 58, p. 579-592, 1968.

CAPASSO, L. Bacteria in two-millennia-old cheese, and related epizoonoses in Roman populations. **J. Infect.**, v.45, p.122-127, 2002.

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

CASTRO, H. A.; GONZÁLEZ, S. R.; PRAT, M. I. Brucelosis: una revisión práctica. **Acta Bioquím Clín Latinoam**, v.2, n.39, p. 203-216, 2005.

CHATE,S.C.; DIAS,R.A.; AMAKU,M.; FERREIRA, F; MORAES, G.M.; COSTA NETO, A. A; MONTEIRO,L.A.R.C.; LÔBO,J.R.; FIGUEIREDO,V.C.F.; GONÇALVES, V.S.P.; FERREIRA NETO, J.S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Mato Grosso do Sul. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.46-55, 2009.

COELHO, L.M.; MARTINS, L.; EVANGELISTA, F.H. Prevalência da Brucelose nos Trabalhadores de Matadouros em São Luís-MA. **Rev. Bras. Med. Vet.**, Belo horizonte, v.17, n.2, p.95-100, 1995.

CÔRTEZ, J.D. (Ed.) **Epidemiologia: conceitos e princípios principais**. São Paulo: Varela, 1993. 227p.

CORBEL, M.J.; Moriyón, I. International Committee on Systematic Bacteriology Subcommittee on the Taxonomy of *Brucella*. Minutes of the Meeting, 5 and 7 July 1994, Prague, Czech Republic. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, v. 56, p. 1169-1170, 2006.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades Infeciosas dos Mamíferos Domésticos**. 2.a ed., Rio de Janeiro: Medsi, 1992.843p.

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

CUNHA, W. P. Prevalência da Brucelose no Rebanho Bovino Leiteiro da Regional de Itapecuru e os Fatores de Risco Associados à Transmissão em Seres Humanos, Estado do Maranhão. 2012.37f. **Monografia** (Graduação em Medicina Veterinária). Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2012.

D'APICE, M. **Combate a brucelose bovina no Estado de São Paulo baseado na aplicação da "Brucella 19"**. In: Anais do II Congresso Panamericano de Medicina Veterinária, p.113-136, 1954.

DE, B.K; STAUFFER, L; KOYLASS, M.S; SHARP, S.E; GEE, J.E; HELSEL, L.O; STEIGERWALT, A.G; VEGA, R; CLARK, T.A; DANESHVAR, M.I; WILKINS, P.P.; WHATMORE, A.M. Novel *Brucella* Strain (BO<sub>1</sub>) Associated with a Prosthetic Breast Implant Infection. **J. Clin. Microbiol.**, v. 46, n. 1, p. 43-49, 2008.

DIAS, J.A.; MÜLLER, E.E.; DIAS, R.A.; FREITAS, J.C.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; SILVA, M.C.P.; LÔBO, J.R.; FIGUEIREDO, V.C.F.; GONÇALVES, V.S.P.; FERREIRA NETO, J.S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Paraná. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.66-76, 2009.

DIAS, R.A.; GONÇALVES, V.S.P.; FIGUEIREDO, V.C.F.; LÔBO, J.R.; LIMA, Z.M.B.; PAULIN, L.M.S.; GUNNEWIEK, M.F.K.; AMAKU, M.; FERREIRA NETO, J.S.; FERREIRA, F. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de São Paulo. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.118-125, 2009.

DOGANAY, M.; AYGEN, B. Humana Brucellosis: an overview. **Intern. J. of Infec. Diseases**, v.7, n.3, p.173-182, 2003.

EUZÉBY, J.P. **List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature**. Disponível em :<<http://www.bacterio.net/brucella.html>>. Acesso em: 25. Fev. 2014.

EWALT, D.; PAYEUR, J.; MARTIN, B.; CUMMINS, D.; MILLER, W. Characteristics of a *Brucella* species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). **J. Vet. Diagn. Investig.**, v. 6, p. 448-452, 1994.

FERREIRA NETO, J.S. **Situação epidemiológica da brucelose no Brasil.** 2009. Disponível em: < <http://www.leb.fmvz.usp.br/seminario-pncebt/andamento-dos-estudos-de-tuberculose-no-brasil-fernando-ferreira.pdf>> Acesso em: 25.Fev. 2014

FERRAZ, I.B.F. Novos métodos de controle e diagnóstico da brucelose bovina. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.23,n.4,p.504-508,1999.

FIGUEREDO, V.C. F.; LÔBO, J. R. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT). **Cad.Téc. Vet. Zootec.**, n.47, p.99-110, 2005.

FORBES, L. B. ***Brucella abortus* infection in 14 farm dogs.** J. of the Am. Vet. Med. Associat., v. 196, n.6, p. 911-916, 1990.

FOSTER, G.; OSTERMAN, B.S.; GODFROID, J.; JACQUES, I.; CLOECKAERT, A. *Brucella ceti* sp. nov.and *Brucella pinnipedialis* sp. nov.for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**,v. 57, p. 2688-2693, 2007.

FRANCO, M.P., MULDER, M., SMITS, H.L. Persistence and relapse in brucellosis and need for improved treatment. **R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.101, p.854-855, 2007.

FRANZOLIN, M.R. ***Brucella e Francisella.*** IN: TRABULSI, L.R.; ALTHERTHUM,F. (Ed.). Microbiologia. 4.ed. São Paulo: Ateneu. Cap.33, p.261-263, 2005.

GARCIA-CARRILLO, C. **La brucellosis de los animales en América y su relación com la infección humana.** Paris: Office International des Epizooties, 1987, 299p.

GIORGI, W.; CASTRO, A.F.P. de; PORTUGAL, M.A.S.C. Tipificação de amostras de *Brucella* isoladas no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. de Microbiol.**, v.3, p.39-44, 1972.

GIL, A. D.; SAMARTINO, L. E. **Zoonosis em los sistemas de producción animal de las áreas urbanas y periurbanas da América Latina.** Food and Agriculture Organization.Livestock Informacion and Policy Branch, AGAL, 2002.

GODFROID, J.; CLOECKAERT, A.; LIAUTARD, JP et al. Desde a descoberta de o agente da febre de Malta à descoberta de um mamífero marinho reservatório, a brucelose tem sido continuamente uma re-emergentes zoonose.**Vet Res.**,n.36,p. 313-26.2005. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/15845228> Acesso em: 29. Mar.2014.

GOMES, M. J.P. **Gênero *Brucella* spp.** Disponível: <<http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Brucella%204-2013-1.pdf>.>Acesso em: 25. Marc.2014.

GONÇALVES, E.I. (Ed.) **Manual de Defesa Sanitária Animal.** Jaboticabal: FUNEP, 1990. 133p.

GONÇALVES, V.S.P.; RIBEIRO, L.A.; CALDAS, R.A.; FRANCISCO, P.F.C.; DIA, R.A.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; FERREIRA NETO, J.S.; FIGUEIREDO, V.C.F.; J.R. LÔBO, J.R.J. BORGES. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Distrito Federal. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.14-18, 2009.

GONÇALVES, V.S.P. ; M.K.V.C. DELPHINO, R.A. DIAS, F. FERREIRA, M. AMAKU, J.S. FERREIRA NETO, T.B. PORTO, C.M. ALVES, V.C.F. FIGUEIREDO, J.R. LÔBO. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.35-45, 2009.

HOLT, H.R.; ELTHOLTH, M.M; HEGAZY, Y.M., et al. *Brucella spp.* Infection in large ruminants in an endemic area Egypt: cross-sectional study investigating seroprevalence, risk factors and livestock owner's knowledge , attitudes and practices (KAPs). **BMC Public Health**, v.11, 2011.

HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S., 1989. **Applied Logistic Regression**. 2 ed. New York: Wiley-interscience Publication. 2000. 397p.

KLEIN-GUNNEWIEK, M.F.C.; AMAKU, M.; DIAS, R.A.; FERREIRA, F.; GITTI, C.B.; PEREIRA, L.A.; FIGUEIREDO, V.C.F.; LOBO, J.R.; GONÇALVES, V.S.P.; FERREIRA NETO, J.S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Rio de Janeiro. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.77-84, 2009.

LACERDA, L.M.; ALVES, L.M.C.; MATHIAS, L. A.; RODRIGUES, A.L.B.; ALMEIDA, F.M. Brucelose em Trabalhadores de Matadouros do Município de São Luís-MA. **Rev. Hig. Aliment.**, v.14, n.68/69, p.62-65, 2000.

LAGE, A. P. POESTER, F. P. PAIXÃO, T. A. SILVA, T. M. A.; XAVIER, M. N.; MINHARRO, S; MIRANDA, K. L.; ALVES, C.M. MOL, J. P. S.; SANTOS. R. L. Brucelose bovina: uma atualização. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.32, n.3, p.202-212, jul./set. 2008.

LAGE, A. P.; POESTER, F. P., GONÇALVES, V. S. P. Controle da Brucelose Bovina. **Cad. Téc. Vet. Zootéc.**, n.47, p.30-41, 2005.

LAGE, A. P.; POESTER, F.P.; GONÇALVES, V.S.P., et al. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT). **Cad. Téc. Vet. Zootéc.**, n.47, p.99-110, 2005.

LANGENEGGER, J.; SECCHIN, H.; BATISTA, A.M. Bursites brucélicas na cernelha de bovinos de abate e cuidados sanitários no matadouro. **Pesq. Agrop. Bras.**, v.10, p.45-49, 1975.

LANGONI, H.; ICHIHARA, S.M.; SILVA, A.V.; PARDO, R.B.; TONIN, F.B.; MENDONÇA, L.J.P.; MACHADO, J.A.D. Isolation of *Brucella spp.* from milk of Brucellosis positive cows in São Paulo and Minas Gerais States. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.37, n.6, p.444-448, 2000.

LEÓN, F.C. **Brucelosis ovina y caprina**. Paris: Office International des Epizooties, 1994. 451p.

LUCAS, A. de. Simulação de impacto econômico da brucelose bovina em rebanhos produtores de leite das regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil. 2006. 123f. **Tese** (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) - Universidade de São Paulo. São Paulo, 2006.

LUCERO, N.E.; ESCOBAR, E.I.; AYALA, S.M.; PAULO, P.S.; NIELSEN, K.H. Fluorescence polarization assay for diagnosis of human brucellosis. **Journal of Medical Microbiology**, v.52, 883-887, 2000.

MAFRA, P. **Impacto da Brucelose no Ambiente e Saúde Pública**. Estratégias de controle em Zonas Endêmicas: p. 9, 2006.

MARVULO, M.F.V.; FERREIRA, F.; DIAS, R.A.; AMAKU, M.; GROFF, A.C.M.; GONÇALVES, V.S.P.; FIGUEIREDO, V.C.F.; LÔBO, J.R.; FERREIRA; NETO, J.S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Rio Grande do Sul. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.93-102, 2009.

MATHIAS, L.A.; CHAVES, L.F.; CHEN, A.A.; GIRIO, R.J.S.; VALÉRIO, W.N. Evolução de títulos sorológicos, nas provas de soroaglutinação em placa, antígeno acidificado tamponado e fixação de complemento, em bezerras Nelore vacinadas aos 18 meses de idade com *Brucella abortus* amostra B 19. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 21, n. 4, p.139-142, 2001.

MATHIAS, L.A.; MEIRELLES, R.B.; BUCHALA, F.G. Estabilidade do antígeno de célula total de *Brucella abortus* para uso no diagnóstico sorológico da brucelose bovina pela reação de fixação de complemento. **Pesq. Vet. Bras**, v.27, n.1, p.18-22, 2007.

MATHIAS, L.A. Brucelose Animal e suas implicações em Saúde Pública. **O Biológ.**, São Paulo. v.70, n.2, p.47-48, 2008.

MATHIAS, L.A.; CORBELLINI, L.G.; MAIA, L., et al. Validação interlaboratorial do teste de polarização fluorescente para o diagnóstico sorológico da brucelose bovina. **Ciência Rural**. v, 40.p.2135-2140, 2010.

MATOS, S.H.C. Pesquisa de brucelose em leite "In Natura" Comercializados informalmente na Cidade de São Luís-MA. 2004.43f. **Monografia** (Graduação em Medicina Veterinária). Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2004.

MACDERMONTT, J.J.; ARIMID, S.M. Brucellosis in sub-Saharan Africa: epidemiology control and impact. **Vet. Microb.**, v.90, p.111-134, 2002.

MCDONALD, W.L., JAMALUDIN, R., MACKERETH, G. et al. Characterization of a *Brucella* sp. strain as a marine-mammal type despite isolation from a patient with spinal osteomyelitis in New Zealand. **J. Clin. Microbiol.**, v.44, p.4363-4370, 2006.

MEDEIROS, M. A. B. ; NASCIF JUNIOR, I. A.; MATHIAS, L. A. Prevalence of bovine brucellosis among milk suppliers of a dairy industry in Itirapuã, São Paulo, Brazil. **Ars Vet., Jaboticabal**, SP, v.27, n.3, 152-160, 2011.

MEGID, J.; MATHIAS, L. A.; ROBLES, C. A. Clinical Manifestations of Brucellosis in Domestic Animals and Humans. **The Open Vet. Scie. Journ.** 4, p. 119-126, 2010.

MENEZES, H.T. Contribuição para o estudo da brucelose bovina no Triângulo Mineiro. In: **V Congresso Brasileiro de Veterinária**, p 649–657, 1950.

MIRANDA, K. L. et al. Brucelose canina. **Cad. Téc. Vet. Zootéc.**, n.47, p.66-82, 2005.

MIRANDA, K.L.; ALVES, C.M.; MINHARRO, S. LÔBO, J.R, MÜLLER, E.E.; GONÇALVES, V.S.P.; LAGE, A.P. Quem ganha com a certificação de propriedades livres ou monitoradas pelo PNCEBT? **Leite Integral**, v.3, p.44-55, 2008.

MONTEIRO, L. A. R. C.; PELLEGRIN, A.O.; ISHIKAWA, M.M.; OSÓRIO, L. A.R. Investigação Epidemiológica da Brucelose Bovina em um estrato do Estado de Mato Grosso do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 26, n.4, p. 217-222, 2006.

MOURA, P.B.L. Investigação soropidemiológica da Brucelose no município de São Domingos do Maranhão. 2008. 20f. **Monografia** (Graduação em Medicina Veterinária). Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2008.

MORENO, E. Brucellosis in Central America. **Vet. Microb.**, v.90, p.31-38, 2002.

MUFINDAA, F. C.; KLEIN, C. H. Conhecimento de factores de risco e de profilaxia na transmissão da brucelose humana nos profissionais da pecuária na província do Namibe – Angola – 2009. **Rev. Port. Saúde Pública**, v. 29, n.1, p.88-95, 2011.

NASCIMENTO, C. Brucelose em Búfalos: Detecção de Anticorpos Anti- *Brucella sp.* Em dois Municípios do Estado do Maranhão. 2000. 33f. **Monografia** (Graduação em Medicina Veterinária). Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2000.

NEGREIROS, R.L.; DIAS, R.A.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J.S.; GONÇALVES, V.S.P.; SILVA, M.C.P.; FIGUEIREDO, V.C.F.; LÔBO, J.R.; FREITAS, J.; AMAKU, M. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Mato Grosso. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.56-65, 2009.

NETA, A. V. C.; MOL, J. P.S.; XAVIER, M. N.; PAIXÃO, T. A.; LAGE, A.P.; SANTOS, R. L. Pathogenesis of bovine brucellosis. **The Vet. Jour.** 184 (2010) 146–155.

NICOLETTI, P. The epidemiology of bovine brucellosis. **Adv. in Vet. Scien. and Comp. Med.**, v.24, p.69-98, 1980.

NICOLETTI, P. A short history of brucellosis. **Vet. Microbiol.**, v.90, p.5-9, 2002.

NIELSEN, K.H.; GALL, D. Advances in the diagnosis of bovine brucellosis: use of enzyme immunoassays. **Gen. Eng. Biotech.**, v.14, p.25-39, 1994.

NIELSEN, K.H.; GALL, D.; JOLLEY, M.; LEISHMAN, G.; BALSEVICIUS, S.; SMITH, P.; NICOLETTI, P.; THOMAS, F. A homogeneous fluorescence polarization assay for detection of antibodies to *Brucella abortus*. **J. Immunol. Meth.**, v.195, p.161-168, 1996.

NIELSEN, K.H. Diagnosis of brucellosis by serology. **Vet. Microbiol.**, v.90, p. 447-459, 2002.

NIELSEN, K.; SMITH, P.; WIDDISON, J.; GALL, D.; KELLY, L.; NICOLETTI, P. Serological relationship between cattle exposed to *Brucella abortus*, *Yersinia enterocolitica* O:9 and *Escherichia coli* O157:H7. **Veterinary Microbiology**, v. 100, n. 1-2, p. 25-30, 2004.

OGATA, R.A.; GONÇALVES, V.S.P.; FIGUEIREDO, V.C.F.; LÔBO, J.R.; RODRIGUES, A. L. ;AMAKU, M.; FERREIRA, F. ; FERREIRA NETO, J.S. ; DIAS, R.A. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Tocantins. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.126-134, 2009.

OLASCOAGA, R.C. Diagnóstico serológico de la brucelosis. **Zoonosis**, v. 18, p. 107 – 141, 1976.

PAULIN, L.M.; FERREIRA NETO, J.S. A experiência brasileira no combate à brucelose. **Arq. Inst. Biol.** v. 69, n.2, p. 105-112, 2002.

PAULIN, L.M. Artigo de revisão – brucelose. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.70, n.2, p.239-249, 2003.

PAULIM, L.M.; FERREIRA NETO, J.S. **O combate à brucelose bovina: Situação brasileira.** Jaboticabal: Funep. 2003. 121p.

PESSEGUEIRO, P.; BARATA, C.; CORREIA, J. Brucelose – uma revisão sistematizada. **Medicina interna.** v,10, n.2, p.91-100, 2003.

POESTER, F.P.; GONÇALVES, V.S.P.; LAGE, A.P., Brucelosis in Brazil. **Vet. Microbiol.**, v. 90, p. 55-62, 2002.

POESTER, F.P.; SAMARTINO, L.E.; LAGE, A.P. Diagnóstico da brucelose bovina. **Cad. Téc. Vet. Zootec.**, n.47, p.13-29, 2005

POESTER, F P; FIGUEIREDO, V.C.F.; LÔBO, J.R.; GONÇALVES, V.S.P.; LAGE, A.P.; ROXO, E.; MOTA, P.M.P.C.; MÜLLER, E.E.; FERREIRA NETO, J.S. Estudos de prevalência da brucelose bovina no âmbito do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose: Introdução. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.1-5, 2009.

POESTER, F.P. Brucelose. 2010. Disponível em < [http://www.zoonoses.org.br/absoluto/midia/imagens/zoonoses/arquivos\\_1258561628/3644\\_manual\\_de\\_zoonoses\\_v1\\_edicao2.pdf](http://www.zoonoses.org.br/absoluto/midia/imagens/zoonoses/arquivos_1258561628/3644_manual_de_zoonoses_v1_edicao2.pdf) > Acesso em: 02. Fev. 2014.

POESTER, F.P.; SAMARTINO, L.E.; SANTOS, R.L. Pathogenesis and pathobiology of brucellosis in livestock. **Rev. Sci. Tech. Off. int. Epiz.**, v.32, n. 1, p.105-115, 2013.

PRAZERES, M. P. C. de S. Soroprevalência da brucelose e identificação dos fatores de riscos para rebanho bovino no município de São Francisco do Brejão no Estado do Maranhão. 2009. 103f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2009.

RADOSTITS, O.M.; BLOOD, D.C. (Ed.) **Manual de controle da saúde e produção dos animais**. São Paulo: Editora Manole,1986. 530p.

RAMOS, J.M. Non-imported brucellosis outbreak from unpasteurized raw Milk in Moroccan immigrantis in Spain. **Epidemiol. Infect.**, p.1-4, 2008.

RAMOS, T.R.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; MOURA SOBRINHO, P.A.; SANTANA, V.L.; GUERRA, N.R.; MRLO, L.E.; MOTA, R.A. Epidemiological aspects of an infection by *Brucella abortus* in risk occupational groups in the microregion of Araguaína, Tocantins. **Braz. J. Infect. Dis.** n.12, p.133-138, 2008.

REFAI, M. Incidence and control of brucellosis in the Near East Region.**Vet. Microbial**, v.90, p.81-110, 2002.

REIS, R. Brucelose: **O que é, suas causas e seus problemas**. Curitiba: UFMG, 1977.

RENUKARADHYA, G.J.;ISLOOR, S.; RAJASEKHAR, M. Epidemiology, zoonotic aspects, vaccination and control/eradication of brucellosis in Índia.**Vet. Microbiol.**, v.90,p.183-195, 2002.

RIET-CORREA F., SCHILD A. L., MÉNDEZ M.C., LEMOS R.A.A.; **Doenças de Ruminantes e Eqüinos**, Ed. Varela, v. 1, p.721, 2007.

RIBEIRO, M. G. MOTTA, R. G. ALMEIDA, C. A. S. Brucelose eqüina: aspectos da doença no Brasil. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.32, n.2, p.83-92, 2008.

RIVERA, S.A.; RAMIREZ, M.C.; LOPETEGUI, I.P. Eradication of bovine brucellosis in the 10th Region de Los Lagos, Chile. **Vet. Microb.**, v.90, p.45-53, 2002.

ROCHA, W.V.; V.S.P. GONÇALVES, C.G.N.F.L. COELHO, W.M.E.D. BRITO, R.A. DIAS, M.K.V.C. DELPHINO, F. FERREIRA4, M. AMAKU, J.S. FERREIRA NETO,V.C.F. FIGUEIREDO, J.R. LÔBO, L.A.B. BRITO. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Goiás. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.27-34, 2009.

ROTH, F.;ZINSSTAGE, J.; ORKHON, D.;CHIMED-OCHIR, G.; HUTTON, G.;COSIVI, O.; CARRIN,G.; OTTE, J. Human healt benefits from livestock vaccination for brucellosis: case study. **Bul. World Healt Org.**, v.81, n.12, p.867-876, 2003.

SANTANA, S.S. Soro epidemiologia da *Brucella abortus* em Rebanhos Bovinos na Região do Cerrado do Estado do Maranhão. 2010.82f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2010.

SANTOS, H.P. Alguns Aspectos do Sistema de Produção e da Sanidade dos Bovinos de Leite da Ilha de São Luís – MA. 1988. 119f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1988.

SANTOS, H.P.; TEIXEIRA, W. C.; OLIVEIRA, M. M. M.; PEREIRA, H.M.; OLIVEIRA, R.A.; NEGREIROS, R. C.; SOARES FILHO, P.M.; SANTANA, S.S.; CASTRO, R. S. Brucelose Bovina e Humana Diagnosticada em Matadouro Municipal de São Luís - MA, Brasil. **Ciênc. Vet. Tróp.**, Recife-PE, v. 10, n. 2/3, p. 86 - 94 , 2007.

SANTOS, H.P. Leucose Enzoótica Bovina: Estudo epidemiológico na bacia leiteira do estado do Maranhão e aperfeiçoamento do diagnóstico. 2010. 87f. **Tese** (Doutor em Ciência Veterinária) – Universidade federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

SANTOS, R. L. et al. Infecção por *Brucella ovis*. **Cad. Téc. Vet. Zootéc.**, n.47, p.42-56, 2005.

SANTOS, R. L.; SILVA, F.L.; PAIXÃO, T.A.; SAMARTINO, L.E. Brucelose: zoonose e bioterrorismo. **Cad Tec Vet Zootec**, n.47, p.83-98, 2005.

SANTOS, R. L.; MARTINS, T. M.; BORGES, A. M.; PAIXÃO, T. A. Economic losses due to bovine brucellosis in Brazil. **Pesq. Vet. Bras.** v.33, n.6, p. 759-764, junho 2013.

SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH, NE; WHATMORE, AM; QUANCE, CR; KOYLASS, MS; CUMMINS, LB; DICK JR, EJD; SNIDER, CL; CAPPELLI, D; EBERSOLE, JL; NATHANIELSZ, PW.; GENE B. HUBBARD, GB. A novel *Brucella* isolate in association with two cases of stillbirth in non-human primates – first report. **J. Med. Primatol.**, v. 38, p. 70–73, 2009.

SCHOLZ, HC.; HUBALEK, Z.; SEDLÁČEK, I.; VERGNAUD, G.; TOMASO, H.; AL DAHOUK, S.; MELZER, F.; KÄMPFER, P.; NEUBAUER, H.; CLOECKAERT, A.; MAQUART, M.; ZYGMUNT, MS.; WHATMORE, AM.; FALSÉN, E.; BAHN, P.; GÖLLNER, C.; PFEFFER, M.; HUBER, B.; BUSSE, HJ.; NÖCKLER, K. *Brucella microtis* nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, v. 58, p. 375-382, 2008.

SCHEIN, F.B.; SANTOS, M.D.;SIQUEIRA, A.A.F. et al. Prevalência da brucelose em bovinos de leite e fatores de risco associados à transmissão em seres humanos. **Arq.Inst.Biol. São Paulo**, v.71, (supl.), p.1-749, 2004.

SOHN, A.; PROBERT, W.; GLASER, C.; GUPTA, N.; BOLLEN, A.; WONG, J.; GRACE, E.; MCDONALD, W. Human neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by a marine mammal *Brucella* spp. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 9, p. 485-488, 2003.

SIKUSAWA, S. Prevalência e caracterização epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Santa Catarina. 2004. 107f. **Dissertação** (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

SIKUSAWA, S.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRANETO, J. S.; MARTINS, C.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; FERREIRA, F. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Santa Catarina. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.103-108, 2009.

SILVA, C.M.S. da. Brucelose em Rebanho Bovino no município de Riachão-MA. 2000. 17f. **Especialização** (Inspeção Sanitária e Industrial dos Alimentos de Origem Animal). Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2000.

SILVA, V.G.S.O. ; DIAS, R.A; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; COSTA, E.L.S.; LÔBO, J.R.; FIGUEIREDO, V.C.F.; GONÇALVES, V.S.P.; FERREIRA NETO, J.S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Sergipe. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.109-117, 2009.

STRINGER, L.A.; GUITIAN, F.J.; ABERNETHY, D.A.; HONHOLD, N.H.; MENZIS, F.D. Risk associated with animals moved from herds infected with brucellosis in Northern Ireland. **Prev Vet. Med.**, v.84, p.72-84, 2008.

TENÓRIO, T.G.S.; MELO, L.E.H.; MOTA, R.A.; FERNADES, C.H.C.; SÁ, L.M.; SOUTO, R.J.C.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W. Pesquisa de fatores de risco para a Brucelose Humana associados à presença de Brucelose Bovina no Município de Correntes, Estado de Pernambuco, Brasil. **Arq. Inst. Biol. São Paulo**, v.75, p.415-421, 2008.

THOEN, C.O; ENRIGH, T.F; CHEVILLE, N.F. *Brucella*. In: Gyles CL, Thoen CO. (Ed.). **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. 2. ed. Ames: Iowa State University Press, p.236-247. 1993.

TIMONEY, J.F.; GILLESPIE, J.H.; SCOTT, F.W.; BARLOUGH, J.E. **Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals**. London: Comstock Publishing Associates. Division of Cornell University Press. p.135-144. 1988.

TIKARE NV, MANTUR BG, BIDARI LH. Brucella meningite em uma criança - evidência de transmissão de leite materno. **J. Trop. Pediatr.** 2008; v. 54, n. 4, p. 272-4. doi:10.1093/tropej/fmn017. Epub 2008 21 fev. Disponível: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18292100>> Acesso em: 29. Mar.2014.

VARGAS, O.F. Brucellosis in Venezuela. **Vet. Microb.**, v.90, p.34-44, 2002.

VASCONCELLOS, S. A.; ITO, F. H.; CÔRTEZ, J. A. Bases para a prevenção da brucelose animal. **Comum. Cient. Fac. Med. Vet. Zootec. USP**, v.1, p. 25-36, 1987.

VASCONCELOS, C.G.C. Zoonoses ocupacionais: inquérito soro- epidemiológico em estudantes de medicina veterinária, e análises de risco para Leptospirose, Brucelose e Toxoplasmose. 2003.108p. **Tese** (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

VIANA, K.F.; MORAES, G.C.; ZANINI, M.S. Frequência da anticorpos anti- *Brucella abortus* em rebanhos bovinos de aptidão leiteira no Município de Alegrete, Estado do Espírito Santo. **Acta Vet. Brasil.**,v.3,n.1,p.13-15,2000.

VILLAR, K.S.; AMAKU, M.; DIAS, R.A.; FERREIRA NETO, J.S.; BENITEZ, F.; GONÇALVES, V.S.P.; FIGUEIREDO, V.C.F.; LÔBO, J.R.; FERREIRA, F. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Rondônia. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, supl. 1, p.85-92, 2009.

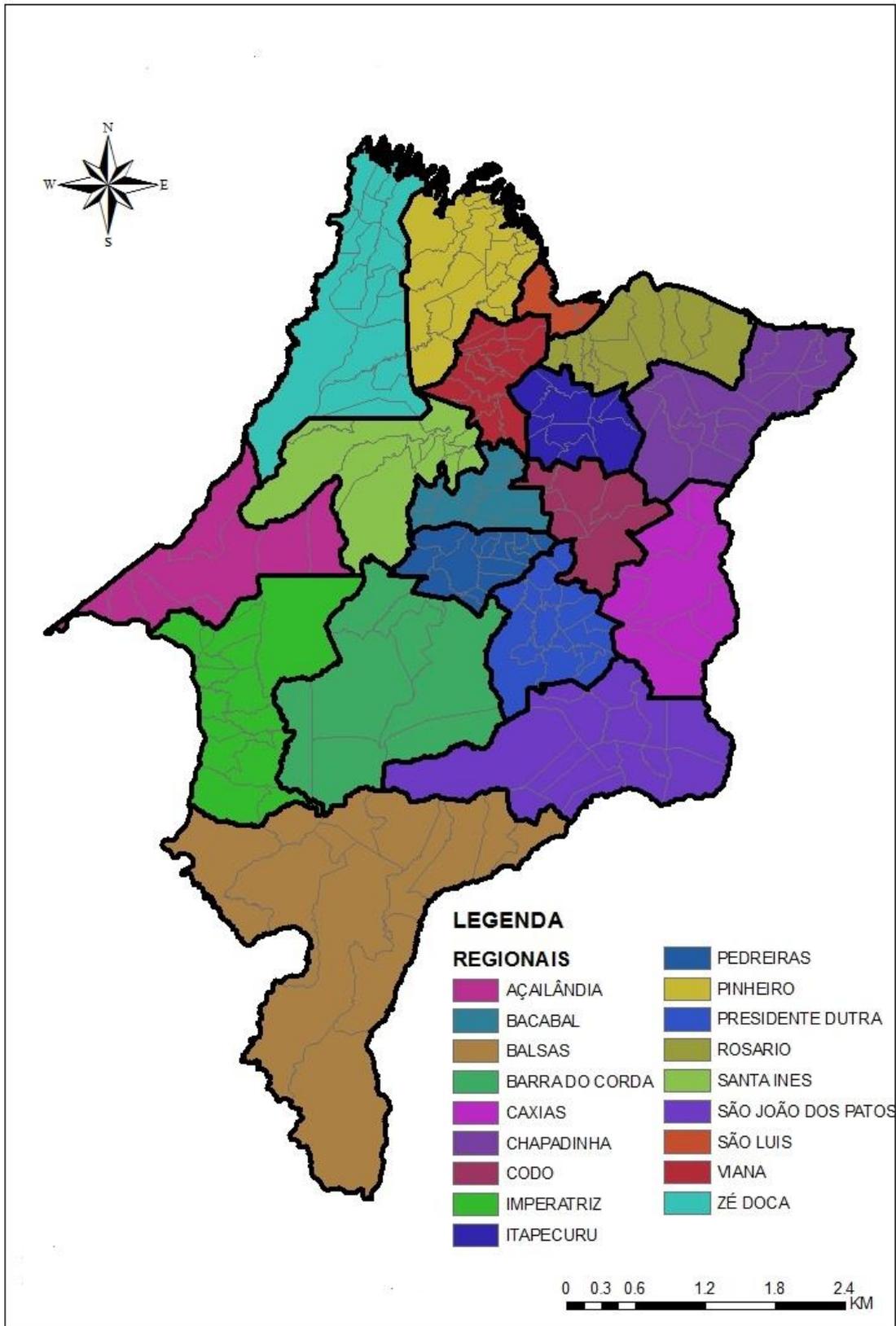
VINHAS, C. Sugestões para um programa de erradicação de Brucelose. **Rev. Bras. Malariol.**, v.10, p.101-110, 1958.

XAVIER, M. N.; COSTA, E, A.; C. PAIXÃO, T. A.; SANTOS, R. L. The genus *Brucella* and clinical manifestations of brucellosis. **Ciên. Rural**, Santa Maria, v.39, n.7, p.2252-2260, 2009.

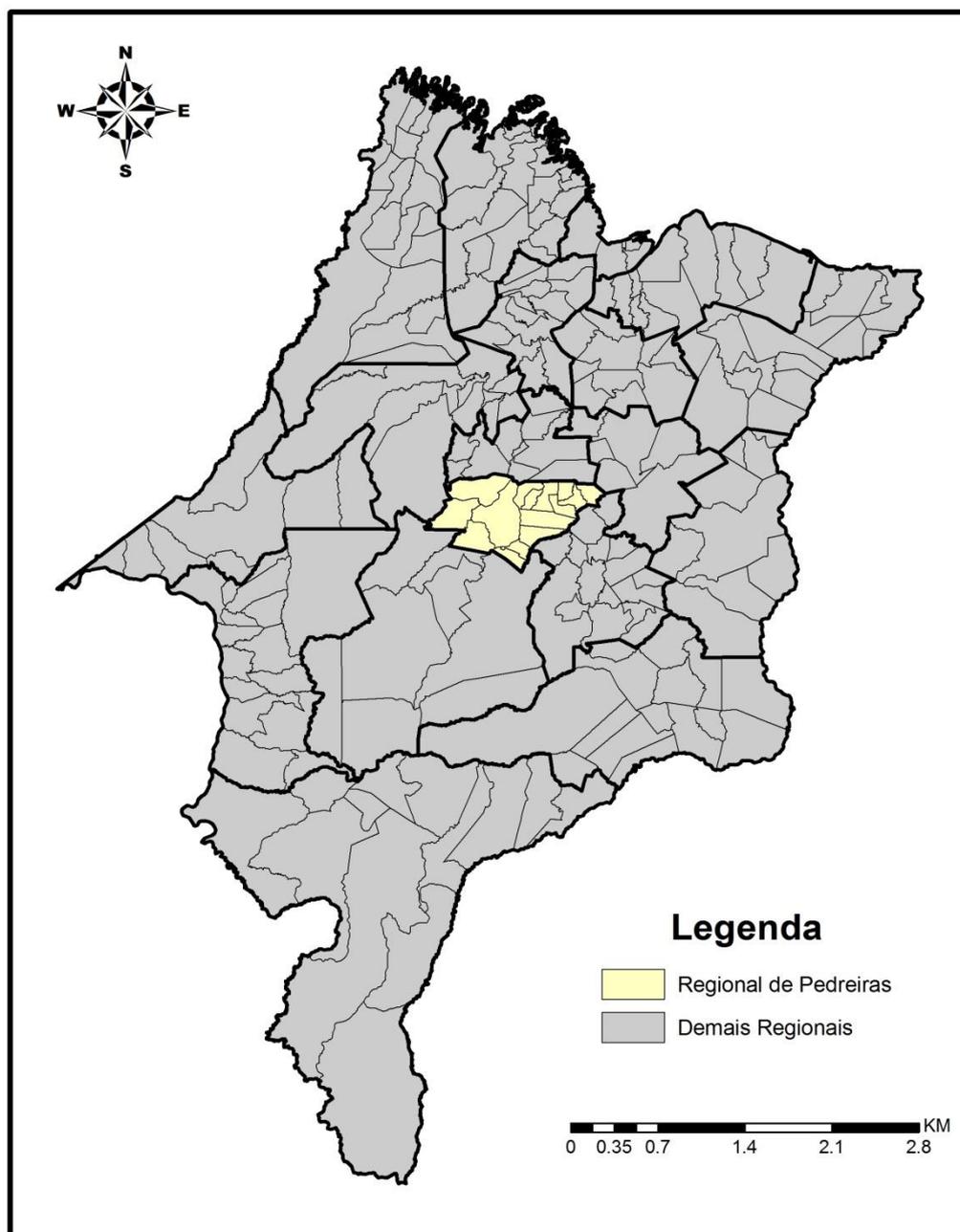
XAVIER, M.N.; PAIXÃO, T A.; POESTER, F. P.; LAGE, A.P.; SANTOS, R. L. Pathology, immunohistochemistry and bacteriology of tissues and milk of cows and fetuses experimentally infected with *Brucella abortus*. **J. Comp. Pathol.**v.140, 149-157, 2009.

XAVIER, M. N.; PAIXÃO T. A.; HARTING, A. B. den.; TSOLIS, R. M.; SANTOS , R. L. Pathogenesis of *Brucella* spp.**The Open Vet. Sci. Journ.**, 2010, 4, 109-118.

**ANEXOS**



Anexo A – Mapa das 18 Unidades regionais da AGED/MA



Anexo B – Mapa da Unidade Regional de Pedreiras



## APÉNDICE

## APÊNDICE - A

## BRUCELOSE BOVINA

<b>01-Identificação:</b>  Município: _____ U.F.: _____  Proprietário: _____  Propriedade: _____	<b>02 – Data da visita e colheita</b>
	<b>03 – Coordenadas</b>  Lat _____ ° _____ ' _____ "  Lon _____ ° _____ ' _____ "

- 04- Tipo da Exploração:**  leite  mista  
**05- Tipo de Criação:**  confinado  semi-confinado  extensivo  
**06- Nº de Ordenhas por dia:**  1 ordenha  2 ou 3 ordenhas  
**07- Tipo de Ordenha:**  manual  mecânica ao pé  mecânica em sala de ordenha  
**08- Produção de leite:** a) Nº de vacas em lactação: \_\_\_\_\_  
b) Produção diária de leite na fazenda: \_\_\_\_\_ litros  
**09- Usa inseminação artificial?**  não  usa inseminação artificial e touro  usa só inseminação artificial  
**10- Raça predominante:**  girolando  mestiço/gir  mestiço/holandês  outras raças.....

## 11. A - CLASSIFICAÇÃO ETÁRIA

ATÉ 12 meses		13 a 24 meses		25 a 36 meses		>36 meses		TOTAL GERAL
M	F	M	F	M	F	M	F	

- 12- Outras espécies na propriedade:**  ovinos/caprinos  equídeos  suínos  cães  
**13- Espécies silvestres em vida livre na propriedade:**  não tem  cervídeos  capivaras  outras:.....  
**14- Alguma vaca abortou nos últimos 12 meses?**  não  sim  não sabe  
**15- Quem você procura quando há abortos?**  Veterinário Particular  Veterinário AGED  Ninguém  
 outros .....  
**16- O que faz com o animal que abortou?**  separa envia abate  não separa e deixa no plantel  vende outra finalidade  
**17- O que faz com o feto abortado e a placenta?**  enterra/joga em fossa/queima  alimenta porco/cão  
 não faz nada  
**18- Faz testes para diagnóstico de brucelose?**  não  sim  
**19 - 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  
**20- Vende fêmeas ou machos para reprodução?**  não  sim  
**A quem/onde:**  em exposição  em leilão/feira  a comerciante de gado  diretamente a outras fazendas  
**21- Tem conhecimento sobre a doença?**  não  sim .....  
**22- Vacina contra brucelose?**  não  sim, fêmeas entre 3 e 8 meses de idade  sim, fêmeas de qualquer idade  
**23- Tem piquete separado para fêmeas na fase de parto e/ou pós-parto?**  não  sim  
**24 - Existem na propriedade áreas alagadiças às quais o gado tem acesso?**  não  sim  
**25 -Aluga pastos em alguma época do ano?**  não  sim.....  
**26- Principal fonte de água dos animais?**  açudes  poços  rios  igarapés /lago  
**27 -Tem assistência veterinária?**  não  sim **De que tipo?**  veterinário da cooperativa  veterinário particular  
**28 - Faz controle reprodutivo?**  não  sim.....  
**29 - Manipula fêmeas com dificuldade de parir?**  não  sim

## APÊNDICE B

## QUESTIONÁRIO BRUCELOSE SERES HUMANOS – UR PEDREIRAS

Nome: \_\_\_\_\_

Propriedade: \_\_\_\_\_

Município: \_\_\_\_\_

Nº amostra: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

**6 - Grau de escolaridade:** Ensino Fundamental incompleto Ensino Fundamental completo Ensino Médio incompleto Ensino Médio completo**7 - Quanto tempo encontra-se na atividade?** MENOS DE 1 ANO 1 A 2 ANOS 2 A 3 ANOS 3 A 4 ANOS MAIS DE 4 ANOS**8 - Quais dos Sintomas você apresenta:** Febre Tipo: \_\_\_\_\_  Dores musculares  Dores articulações Dor de cabeça  Insônia  Cansaço  Suores Noturnos  Dores Testículos**9 - Manipula vacas com dificuldades de parir?** Sim  Não**10 - Já ouviu falar de Brucelose?** Sim  Não**11 - Manipula esterco bovino?** Sim  Não**12 - Faz vacinação contra brucelose?** Sim  Não**13 – Consumiu ou consome leite cru?** Sim  Não

**APÊNDICE C**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA SANITÁRIA ANIMAL**  
**PROJETO: BRUCELOSE: FREQUÊNCIA, GEORREFERENCIAMENTO DE**  
**FOCOS, FATORES DE RISCO EM REBANHOS BOVINOS E EM SERES**  
**HUMANOS ENVOLVIDOS NA CADEIA PRODUTIVA DO LEITE NA REGIÃO DO**  
**MÉDIO MEARIM, MARANHÃO, BRASIL**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**ORIENTADORA:** Prof. Dra. Lúcia Maria Coelho Alves

**PESQUISADOR:** Robert Ferreira Barroso de Carvalho

**INTITUIÇÃO:** Universidade Estadual do Maranhão

As informações prestadas serão utilizadas para compreender melhor o que você sabe sobre Brucelose Bovina e em Seres Humanos, que contribuirá para sabermos a prevalência desta enfermidade nos ordenhadores das propriedades amostradas.

Vale ressaltar que sua identidade será preservada.

Eu, \_\_\_\_\_, declaro ter sido informado e concordo em participar, com a retirada e 5 ml de sangue por um Técnico de Enfermagem e responder as perguntas do questionário sobre Brucelose, parte integrante do projeto de pesquisa acima citado.

\_\_\_\_\_  
CPF:

\_\_\_\_\_  
Robert Ferreira Barroso de Carvalho (12 DSA 013)

