

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE -
MESTRADO

MARGARIDA PAULA CARREIRA DE SÁ PRAZERES

**SOROPREVALÊNCIA DA BRUCELOSE E IDENTIFICAÇÃO
DOS FATORES DE RISCO PARA O REBANHO BOVINO DO
MUNICÍPIO DE SÃO FRANCISCO DO BREJÃO - MARANHÃO**

São Luís
2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MARGARIDA PAULA CARREIRA DE SÁ PRAZERES

**SOROPREVALÊNCIA DA BRUCELOSE E IDENTIFICAÇÃO
DOS FATORES DE RISCO PARA O REBANHO BOVINO DO
MUNICÍPIO DE SÃO FRANCISCO DO BREJÃO - MARANHÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Mestrado da Universidade Federal do Maranhão, como parte dos requisitos para para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ana Lúcia Abreu Silva
Co-Orientadoras: Prof^ª. Dr^ª. Alcina Vieira de Carvalho Neta
Prof^ª. Dr^ª. Alcione Miranda dos Santos

São Luís
2009

MARGARIDA PAULA CARREIRA DE SÁ PRAZERES

**SOROPREVALÊNCIA DA BRUCELOSE E IDENTIFICAÇÃO
DOS FATORES DE RISCO PARA O REBANHO BOVINO DO
MUNICÍPIO DE SÃO FRANCISCO DO BREJÃO - MARANHÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Mestrado da Universidade Federal do Maranhão, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Ana Lúcia Abreu Silva
Doutora em Ciências
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Ricardo Augusto Dias
Doutor em Medicina Veterinária
Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Helder de Moraes Pereira
Doutor em Anatomia
Universidade Estadual do Maranhão

Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo
Doutor em Patologia Geral
Universidade Estadual do Maranhão

Para Madalena Carreira, que
acompanha em espírito esta
empreitada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, razão primeira de todas as coisas.

Aos meus pais, Izaias e Cezarina de Sá, que sempre me mostraram o valor da recompensa alcançada pelo esforço próprio.

Ao meu marido, Igor Prazeres, que inconscientemente me ensinou a superar meus limites, nos momentos mais difíceis, e ser forte.

A minha irmã, Érica de Sá, minha sobrinha, Raissa de Sá, e minha tia, Marieta Carreira, pela compreensão da ausência.

Aos meus sogros, João e Aparecida Prazeres, pelo apoio durante todo o mestrado, não medindo esforços para auxiliar-me.

As minhas cunhadas, Renata Prazeres, pela cooperação, e Erika Prazeres, por estar sempre disponível durante as viagens de coleta de material.

A amiga, Maria Benedita Jardim, pela revisão ortográfica da dissertação e disponibilidade.

A todos os meus familiares e amigos, pela força e incentivo.

A minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Abreu Silva por sua dedicação e disponibilidade.

As minhas co-orientadoras, Alcina de Carvalho Neta e Alcione Miranda dos Santos, por serem presentes e atenciosas a quaisquer dúvidas.

Aos professores que fizeram parte da banca de qualificação, Dr. Antônio Augusto Moura da Silva e Dr. Ferdinan Almeida Melo, pelas sugestões que só enriqueceram esta pesquisa.

Ao Prof. Hamilton Santos, Prof^a. Lúcia Alves e colega Nancilene Chaves por auxiliarem na realização das provas de diagnóstico na UEMA.

Aos colegas do curso, que, ao longo desta jornada, foram grandes parceiros. Agradeço especialmente a Ana Margarida Nunes, Estevam Lula, Darciléia Ribeiro e Vanda Ramos, companheiros inseparáveis de equipe.

Ao Diretor Geral da AGED, Dr. Sebastião Anchieta, por patrocinar esta pesquisa e reconhecer a importância da capacitação dos seus colaboradores.

Ao Coordenador de Defesa Animal, Dr. Romildo Mota, pela compreensão nas ausências e sincera amizade, e ao Chefe do Setor de Febre Aftosa, Dr. Aymoré Fernandes, pelo incentivo.

Aos amigos e colegas de profissão, Sonizethe Santana e Washington Conceição, por compartilharmos materiais de pesquisa.

À Prefeitura de São Francisco do Brejão pela colaboração na execução deste trabalho, em especial ao Secretário de Agricultura, Dr. Toinho, por acreditar no progresso municipal através da pesquisa.

Ao Chefe da Regional de Açailândia, Dr. Anísio Rocha, pelo auxílio e interesse.

Um agradecimento especial a um grande amigo, que me mostrou o verdadeiro exemplo de caridade e desapego, sem ele a execução das atividades de campo seria quase impossível, Richard Wagner, Chefe da UVL

de São Francisco do Brejão, um sincero muito obrigada.

A Dr^a. Placidina Dourado, por receber-me em sua casa e acolher-me sempre.

A todos os professores do Mestrado em Ciências da Saúde e do Mestrado de Saúde Coletiva, por contribuírem com meu conhecimento. Em especial à Prof^a. Marilene por sua disponibilidade e educação.

Aos funcionários da UFMA.

Sempre faço o que não consigo fazer
para aprender o que não sei.

Pablo Picasso

RESUMO

Foi realizado um estudo transversal no município de São Francisco do Brejão para determinar a soroprevalência da brucelose no rebanho bovino e identificar os principais fatores associados à enfermidade no rebanho e nos animais. Selecionou-se os rebanhos de forma aleatória simples, coletando-se as amostras de sangue de 15 bovinos, nas propriedades com mais de 100 animais; de 10 animais, em rebanhos com menos de 100 cabeças e de todos os bovinos quando o rebanho fosse menor ou igual 10 cabeças. Foram sangrados bovinos de ambos os sexos maiores que 8 meses e fêmeas vacinadas acima de 24 meses de idade. Ao todo foram selecionados 69 rebanhos, aplicado o questionário epidemiológico e colhidas 736 amostras de sangue. Os soros foram submetidos a um protocolo de testes em série, tendo o AAT, como método de triagem, e o SAL e 2-ME, como teste confirmatório. Observou-se que a prevalência estimada de rebanhos focos, com pelo menos um animal soropositivo, foi de 30,43%, IC 95% [19,92 - 42,69], enquanto a prevalência estimada de animais soropositivos foi 3,94%, IC 95% [2,65 - 5,61]. Foram utilizados os modelos de regressão logística e modelagem multinível para identificar quais fatores encontravam-se associados com os focos de brucelose nos rebanhos e com a soropositividade dos bovinos, respectivamente. As variáveis que apresentassem $p < 0,20$ na análise univariada e $p < 0,05$ na análise multivariada, de ambos os modelos, eram consideradas epidemiologicamente relevantes para ocorrência da brucelose. Assim, constatou-se que a elevada movimentação de bovinos nas propriedades (OR=9,50, IC 95%=[2,16 – 41,80]), deixar restos abortados no pasto (OR=5,54, IC 95%=[1,14 – 26,13]) e a presença de áreas de pasto comum entre propriedades (OR=0,20, IC 95%=[0,04 – 0,99]) influenciavam na prevalência de focos de brucelose no município. Enquanto que a idade dos bovinos (OR=5,28, IC 95%=[1,59 – 17,55]) e o aluguel pasto da propriedade para outros rebanhos (OR = 9,59, IC 95% = [1,34 – 68,60]) encontravam-se relacionados com o soropositividade dos bovinos.

Palavras-chave: Brucelose Bovina. Prevalência. Fator de Risco.

ABSTRACT

An cross-sectional study was carried out in dairy farm at São Francisco do Brejão – MA to determinate brucellosis soroprevalence cattle herd, and identify the major risk factors associated to animal and herd disease. The herds were randomly selected and blood samples were collected from 15 bovines in herds of over 100 cattle; 10 bovines, in herds where there were 10 to 100 cattle and all bovines were sampled when the herd was less than 10 animals. Only cattle (males and females) over 8 months old and vaccinated females over 24 months old were sampled. Overall, 69 herds were selected, the epidemiologic questionnaire was applied and 736 blood sample were collected. The sera samples were tested using a sera testing procedure with the AAT as the screening test and the SAL and 2-ME as confirmatory test. The results showed that the herd-level estimated prevalence ,when at least one test-positive animal, was 30,43%, IC 95% [19,92 - 42,69], and the animal-level prevalence was 3,94%, IC 95% [2,65 - 5,61]. The logistic regression model and multilevel models were used to identify how factors were associated with herds-level brucellosis and with animal-level brucellosis, respectively. Were considered epidemiologically relevant (concerning brucellosis) when the $p < 0,20$ in univariable analysis and $p < 0,05$ in multivariable analysis in both models. Therefore it was identified a constant movement of cattle in farms (OR=9.50, IC 95%=[2,16 – 41,80]), abortions were left off in grazing areas (OR=5.54, IC 95%=[1,14 – 26,13]) and common grazing areas between farms (OR=0.20, IC 95%=[0,04 – 0,99]) influenced herds-level brucellosis prevalence in the city. While the age of cattle (OR=5,28, IC 95%=[1,59 – 17,55]) and rent grazing areas for others herds (OR = 9,59, IC 95% = [1,34 – 68,60]) were related to seropositivity brucellosis.

Keywords: Bovine Brucellosis. Prevalence. Risk factor

LISTA DE GRÁFICO

Gráfico 1 - Renda familiar mensal dos entrevistados nas propriedades rurais de São Francisco do Brejão – MA, 2008.	40
Gráfico 2 - Presença de demais espécies animais nas propriedades rurais estudadas no município de São Francisco do Brejão - MA, 2008.	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Modelo de regressão logística univariada dos fatores de risco mais associados à ocorrência de foco de brucelose bovina nas propriedades rurais amostradas em São Francisco do Brejão - MA, 2008.	47
Tabela 2 - Análise multivariada dos fatores de risco para ocorrência de foco de brucelose bovina nas propriedades rurais estudadas no município de São Francisco do Brejão - MA, 2008.....	38
Tabela 3 - Análise univariada do modelo multinível dos fatores de risco mais associados à brucelose bovina, em São Francisco do Brejão - MA, 2008... ..	50
Tabela 4 - Análise multivariada do modelo multinível de fatores de risco para brucelose em bovinos nas propriedades rurais estudadas no município de São Francisco do Brejão - MA, 2008	51

LISTA DE SIGLAS

2-ME	- Teste do 2-Mercaptoetanol
AAT	- Teste do Antígeno Acidificado Tamponado
AGED	- Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão
CEEA/CMV/UEMA	- Comitê de Ética em Experimentação Animal do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão
ELISA	- Ensaio Imunoensimático
FAO	- Organização de Agricultura e Alimentos
FC	- Teste de Fixação de Complemento
GTA	- Guia de Trânsito Animal
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MA	- Maranhão
MAPA	- Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
OIE	- Organização Mundial de Sanidade Animal
OMS	- Organização Mundial de Saúde
PCR	- Teste de Reação em Cadeia da Polimerase
PNCEBT	- Programa Nacional de Controle e Erradicação da brucelose e Tuberculose
SAL	- Teste de Soro-aglutinação Lente em Tubos
TAL	- Teste do Anel do Leite
UFA	- Unidade Final de Amostragem
UPA	- Unidade Primária de Amostragem
UVL	- Unidade Veterinária Local

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Histórico	17
2.2	Etiologia.....	18
2.3	Epidemiologia da brucelose	19
2.4	Patogenia.....	20
2.5	Sinais Clínicos	22
2.6	Importância para a saúde pública	23
2.7	Perdas econômicas relacionadas à brucelose	24
2.8	Distribuição geográfica da brucelose	25
2.9	Brucelose no Brasil e no Maranhão	26
2.10	Diagnóstico da brucelose	27
2.11	Prevenção e controle.....	28
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
3.1	Seleção da área em estudo.....	30
3.2	População em estudo.....	31
3.3	Amostragem dos rebanhos	31
3.4	Coleta de dados	32
3.4.1	Prova sorológica dos animais	32
3.4.2	Aplicação do questionário epidemiológico	33
3.4.3	Processamento dos dados	34
3.5	Análise estatística	34
3.5.1	Modelo logístico multivariado.....	35
3.5.2	Modelo multinível com amostragem complexa	36
4	RESULTADOS	39
4.1	Prevalência da brucelose.....	39
4.2	Caracterização epidemiológica da amostra	39
4.3	Fatores de risco associados à disseminação da brucelose	

	entre rebanhos	46
4.4	Fatores de risco associados à disseminação da brucelose	
	entre os bovinos	48
5	DISCUSSÃO	52
6	CONCLUSÕES	68
	REFERÊNCIAS	69
	APÊNDICE	79
	ANEXO	85

1 INTRODUÇÃO

A brucelose é uma zoonose de distribuição mundial, com registro de ocorrência muito antigo. Persiste como um relevante problema zoossanitário responsável por consideráveis perdas econômicas na produção pecuária e importante impacto na saúde pública (SOFIAN et al., 2007; RIBEIRO, 2000)

Esta enfermidade é causada por várias espécies do gênero *Brucella*, entre elas a *Brucella abortus*, que infecta preferencialmente os bovinos e induz a um quadro clínico caracterizado por transtornos reprodutivos no rebanho (NEGREIROS, 2006). Nos humanos esta doença determina uma sintomatologia clínica inespecífica de febre ondulante, dores no corpo e nas articulações (CUTLER; CUTLER, 2006)

A erradicação da brucelose animal é um passo necessário ao controle da enfermidade em humanos (COELHO et al., 2007; MASSIS et al., 2005). No Brasil a maioria dos casos de brucelose humana está associada ao fator ocupacional, ocorrendo principalmente entre magarefes, médicos veterinários e trabalhadores de fazenda (POESTER; GONÇALVES; LAGES, 2002), profissionais estes que estão continuamente expostos a secreções e/ou restos placentários abortados por animais infectados. Outra forma de contaminação do ser humano é através do consumo de leite e/ou produtos derivados não pasteurizados.

Estudos realizados em vários países mostram que rebanho com grande número de animais, a elevada introdução de animais, o contato com animais selvagens, as práticas de manejo inadequadas o tipo de exploração pecuária e a ocorrência de aborto são os principais fatores de risco para disseminação da brucelose no rebanho animal (COELHO et al., 2007; DIAS, 2004; MUMA et al., 2007; NEGREIROS, 2006).

São inúmeros os prejuízos ocasionados pela brucelose. No rebanho tem-se uma diminuição na produtividade de leite e carne, desvalorização do preço de comercialização dos animais e dos produtos de origem animal provenientes de regiões infectadas, aumento do intervalo entre partos, ocorrência de abortos em fêmeas doentes, esterilidade, indicação de sacrifício dos animais reagentes e

conseqüente gasto com a compra de outros animais para reposição no plantel. Quando se trata do ser humano além dos prejuízos diretos decorrentes dos serviços médicos, diagnósticos e tratamento, tem-se ainda o afastamento desta pessoa do trabalho ou função produtiva diminuindo a arrecadação de impostos (SIKUSAWA, 2004).

São Francisco do Brejão é o município com maior produção de leite no Estado do Maranhão, aproximadamente 50.000L/dia. Apresenta oito postos de resfriamento de leite que redistribuem o produto a outros laticínios da redondeza para beneficiamento e distribuição intra e interestadual de subprodutos como o queijo, iogurte, manteiga, entre outros.

No presente trabalho objetivou-se determinar a soroprevalência da brucelose no rebanho bovino do município de São Francisco do Brejão – MA e conhecer a situação epidemiológica da brucelose animal no município, avaliando quais as práticas zootécnicas constituem riscos de disseminação da brucelose no rebanho e entre os bovinos.

Baseada na importância econômica da pecuária leiteira para o município de São Francisco do Brejão, na importância sanitária desta bacia leiteira para o Estado, nos prejuízos zootécnicos e de saúde pública determinados pela brucelose na população animal e humana respectivamente, constata-se a relevância social desta pesquisa.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A brucelose é uma zoonose bacteriana, de caráter crônico, caracterizada pela infecção do sistema mononuclear fagocitário, determinada pela *Brucella sp.* acometendo tanto animais domésticos como silvestres (CABALLERO et al., 2000; MUMA et al., 2007; SOLORIO-RIVERA; SEGURA-CORREA; SÁNCHEZ-GIL, 2007). É importante do ponto de vista econômico e de saúde pública, considerada endêmica em muitas áreas do mundo, variando a incidência entre os rebanhos, particularmente entre os bovinos leiteiros, nas áreas destinadas à bovinocultura e entre os países (AZEVEDO, 2006; LUCAS, 2006).

2.1 Histórico

A brucelose tem sido relatada desde a antiguidade, podendo ser implicada como a quinta praga do Egito. Há também achados em ossos pélvicos de egípcios do ano 750 a.C que apresentavam sacroilites em 5,2% dos fósseis, uma complicação comum da brucelose (PAPA; PAPADIMITRIOU, 2007) ou como relatado por Capasso (2002) que, analisando os esqueletos dos habitantes de Herculano e Pompéia, cidades destruídas por uma erupção do vulcão Vesúvio no Império Romano, identificou a existência de espondilite (outra típica lesão da brucelose) em 17,4% dos esqueletos adultos destas cidades.

A denominação do gênero *Brucella* foi criada em 1920, por Meyer e Shaw, em homenagem ao capitão David Bruce, enviado à Ilha de Malta para pesquisar uma enfermidade que acometia os marinheiros da Marinha Real Britânica em 1884, caracterizada por febre e reumatismo, denominada “febre de malta”. O capitão isolou, em 1887, no baço daqueles pacientes um microorganismo descrito como *Micrococcus melitensis*. Inicialmente, acreditava-se que a brucelose era transmitida por vetores. Porém, a constatação de que todos os soldados hospitalizados eram alimentados com leite de cabra fresco até recuperação da higidez física, levou Themistocles Zammit, fisiologista da equipe de Bruce, a testar

o sangue de cabras, no que encontrou 50% dos animais reatores pelo teste da hemoaglutinação. Esse fato permitiu que a cadeia epidemiológica da enfermidade fosse fechada.

“No Brasil, o primeiro caso de brucelose foi detectado em 1913, por Gonçalves Carneiro, em humano” (DIAS, 2004).

2.2 Etiologia

A *Brucella sp.* é um cocobacilo, Gram-negativo, aeróbio, não esporulado, imóvel, intracelular facultativo, não apresenta cápsula nem flagelo. Pode apresentar-se em cultivos primários com morfologia colonial lisa ou rugosa (rugosa estriada ou mucóide), morfologia esta ligada diretamente à composição bioquímica do lipopolissacarídeo da parede celular. Para algumas espécies, existe relação com a virulência, quando evoluem de formas lisas para rugosas ou mucóides deixando de ser patogênicas e apresentando menos eficiência no processo de invasão celular (BRASIL, 2006a; DOGANAY; AYGEM, 2003; PESSEGUEIRO; BARATA; CORREIA, 2003; SILVA et al., 2005). Apresenta um metabolismo oxidativo, baseado na utilização de nitratos, é catalase positivo e, em geral, não fermenta os açúcares (CASTRO; GONZÁLEZ; PRAT, 2005).

De acordo com a variação antigênica, a característica bioquímica e o hospedeiro principal, o gênero *Brucella* encontra-se dividido em sete espécies: *B. melitensis* (caprinos e ovinos), *B. suis* (suínos), *B. abortus* (bovinos), *B. ovis* (ovinos), *B. neotomae* (ratos do deserto) e *B. maris* (mamíferos marinhos), entretanto não há especificidade quanto ao hospedeiro que infectam (KO; SPLITTER, 2003; PAULIN, 2003; RAJASHEKARA et al., 2006; SCHEIN, 2006). Não há relatos de infecção humana natural por *B. ovis* e *B. neotomae* na literatura, entretanto, as demais espécies de *Brucella*, são reconhecidamente capazes de infectar o homem (PESSEGUEIRO; BARATA; CORREIA, 2003; RAJASHEKARA et al., 2006; SILVA et al., 2005).

2.3 Epidemiologia da brucelose

A principal fonte de disseminação da enfermidade são os animais infectados que excretam grande quantidade de bactérias nos restos placentários, tecidos e líquidos de abortos, no leite e em menor proporção nas secreções genitais, contaminando assim o solo, os currais, instalações de manejo, águas residuais e pastos. A capacidade de sobrevivência da *Brucella* em condições naturais é grande, se comparada a de outras bactérias patogênicas não esporuladas, facilitando a disseminação da enfermidade nas mais variadas espécies (AZEVEDO, 2006; SILVA et al., 2005). A bactéria pode sobreviver 60 dias no solo, sobretudo em ambiente úmido, ao abrigo da luz solar, contendo matéria orgânica e em pH neutro; até 180 dias no material fecal, 75 dias em fetos abortados, 200 dias em exsudatos placentários, 110 dias na lã, 100 dias em queijos, 60 dias no coalho, 1 a 2 meses na manteiga refrigerada, na água a 20°C por 2,5 meses e um mês no estrume a 25°C (MUMA et al., 2007; PAULIN, 2003; PESSEGUEIRO; BARATA; CORREIA, 2003).

No rebanho a infecção pela *B. abortus* ocorre principalmente pela ingestão de microorganismos, mas também ocorre a transmissão através da inalação, pela penetração na pele, mucosas e conjuntiva (KABAGAMBE et al., 2001; KO; SPLITTER, 2003; SILVA et al., 2005; SOLORIO-RIVERA; SEGURA-CORREA; SÁNCHEZ-GIL, 2007). A ingestão de pastos, forragens e água contaminados por brucelas e o hábito gregário dos bovinos, das vacas lambem e/ou cheirarem membranas fetais, bezerros recém-nascidos e a genital uma das outras constituem uma importante forma de contágio nesta espécie (AZEVEDO, 2006; LAGE; POESTER; GONÇALVES, 2005). Bezerros amamentados com leite de vacas brucélicas podem contaminar o meio ambiente pela eliminação de fezes com estas bactérias, uma vez que nem todas são destruídas pelas enzimas digestivas (LUCAS, 2006).

Machos e fêmeas bovinos são suscetíveis. No entanto, as fêmeas gestantes são mais sensíveis e permanecem cronicamente infectadas devido à permanência das brucelas nos linfonodos e no útero. Estas fêmeas assumem

importante papel na disseminação da doença, devido à contaminação ambiental provocada pela eliminação dos produtos do parto, abortamento, pelo leite ou contaminação de equipamentos e/ou instalações de manejo dos animais (SIKUSAWA, 2004).

Os touros geralmente não transmitem a infecção pela monta natural, entretanto eliminam a bactéria através do sêmen, constituindo-se um perigo na inseminação artificial, já que o sêmen é colocado no interior do útero da vaca receptora, impossibilitando a ação dos mecanismos naturais de defesa presentes na vagina (NEGREIROS, 2006).

A ocorrência da brucelose nos bovinos depende de fatores como idade, estado reprodutivo do animal, resistência natural, estado imunológico, via de infecção, dose infectante e virulência da cepa infectante. Os animais mais jovens são mais resistentes à infecção por *B. abortus*, conseguindo debelar a doença. Tal resistência parece ocorrer mais nos animais antes da puberdade, caracterizando-a como uma enfermidade de animais maduros sexualmente (LAGE; POESTER; GONÇALVES, 2005; SOLORIO-RIVERA; SEGURA-CORREA; SÁNCHEZ-GIL, 2007). Machos castrados não apresentam um papel relevante na epidemiologia da brucelose bovina, entretanto constituem-se fonte de infecção indireta para humanos durante o abate em frigoríficos.

As espécies silvestres, principalmente as biunguladas, são reservatórios naturais da *B. abortus* e desempenham importante papel na epidemiologia da doença, pois são os mantenedores do agente no ambiente silvestre e potenciais transmissores para os animais domésticos (PAPA; PAPADIMITRIOU, 2007; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). Godfroid (2002) e Muma et al. (2007) relatam o isolamento desta bactéria em bisões (*Bison bison*), alces (*Cervus elaphus*), javalis (*Sus scrofa*), lebres européias (*Lepus capensis*), raposas (*Vulpes vulpes*), búfalos africanos (*Syncerus caffer*) e renas (*Rangifer tarandus*), além de mamíferos marinhos como focas, botos e golfinhos.

2.4 Patogenia

A *Brucella* apresenta mecanismos específicos de sobrevivência intracelular em células fagocíticas profissionais e não profissionais (ainda não bem compreendidos), utilizando-se de várias organelas celulares na replicação, mas sem destruição celular. Ao contrário, esta bactéria altera as funções normais do sistema imunológico do hospedeiro inibindo a apoptose de macrófagos, a prevenção da fusão do fagossomo-lisossomo, a expressão do sistema secretório do tipo IV e inserindo o lipopolissacarídeo brucélico na membrana do hospedeiro, estabelecendo um ciclo vicioso de sobrevivência da bactéria, onde esta escapa dos mecanismos intracelulares de defesa do hospedeiro como o sistema complemento e anticorpos, determinando assim infecções crônicas (KO; SPLITTER, 2003; PAPA; PAPADIMITRIOU, 2007; RAJASHEKARA et al., 2006).

Após invasão da mucosa intestinal, a *B. abortus* pode ser fagocitada por células M, assim como por neutrófilos e macrófagos intraepiteliais que auxiliam no transporte transepitelial da *B. abortus* para a lâmina própria e submucosa (ACKERMAN; CHEVILLE; DEYOE, 1988). Nestes fagócitos as bactérias opsonizadas são internalizadas via complemento e receptores de FC, enquanto as não opsonizadas, aparentemente, penetram via receptores de lectina e fibronectina (CAMPBELL; ADAMS; SOWA, 1994). Essa característica é relevante devido à observação de que bactérias opsonizadas fagocitadas por macrófagos ativados são mais facilmente destruídas no interior de fagolisossomos antes de atingir os sítios de replicação intracelulares, quando comparadas àquelas que utilizaram outros meios de invasão, determinando assim uma ligação da forma de internalização com a sobrevivência intracelular de *B. abortus* (GORVEL; MORENO, 2002). Por outro lado, a virulência da amostra de *Brucella* não tem qualquer influência sobre a aderência e invasão da mesma na célula hospedeira, ou seja, assim como amostras virulentas, amostras apatogênicas conseguem aderir e se interiorizar embora não completem o tráfego intracelular até os sítios de multiplicação (PIZARRO-CERDÁ; MORENO; GORVEL, 2000; GORVEL; MORENO, 2002).

2.5 Sinais clínicos

O quadro clínico da brucelose nas espécies animais caracteriza-se principalmente pela ocorrência de transtornos reprodutivos (CUTLER; CUTLER, 2006). Em vacas primíparas, não vacinadas, observa-se aborto no terço final da gestação. Assim como pode ocorrer o nascimento de animais fracos, natimortos, retenção placentária, metrite, aumento no intervalo entre partos e ocasionalmente esterilidade permanente (AZEVEDO, 2006; LUCAS, 2006).

A *B. abortus* possui grande afinidade pela placenta de ruminantes, o que leva à ocorrência de abortos, principalmente, no terço final da gestação. Afinidade, esta, relacionada à presença de elevadas concentrações de eritritol, substância usada pela *B. abortus* como fonte de carbono e energia (SILVA et al., 2005). Nos touros, a *Brucella* é a causa mais comum de orquite, vesiculite e epididimite, infertilidade temporária ou permanente, dependendo da intensidade das lesões (KABAGAMBE et al., 2001). Lesões articulares também podem ser observadas nos bovinos (BRASIL, 2006a).

Os eqüídeos são os animais menos suscetíveis à infecção e tidos como hospedeiros terminais. São raros os transtornos da esfera reprodutiva. Merece maior preocupação o quadro de lesões articulares debilitantes que levam à irreversível indicação de sacrifício dos animais enfermos. Tais lesões se caracterizam por inflamações em ligamentos, como bursites cervicais, nucais e interescapulares, popularmente chamadas de “mal da cernelha”, “mal da cruz” ou “abscesso de cernelha” (RIBEIRO et al., 2003a; PAULIN, 2003).

A brucelose suína está associada à infertilidade e aumento da taxa de mortalidade de leitões desmamados. Alcançando índices de até 80%, por ninhada. Nas fêmeas suínas os principais sinais clínicos são: estro irregular, nascimento de leitegadas pequenas ou de leitões fracos, além de abortos em qualquer fase da gestação. Nos varrões observa-se epididimite e orquite, sem, entretanto, diminuir a fertilidade do reprodutor, e/ou dificuldade de locomoção por artrite e osteomielite (CARVALHO NETA; NASCIMENTO; SANTOS, 2005).

A *B. abortus* apresenta baixa patogenicidade em caprinos e ovinos, contudo já foi isolada nestes animais em várias situações caracterizando-se por orquite nos machos e, nas fêmeas, abortamentos ou nascimento de cordeiros fracos (KURODA et al., 2004; RIBEIRO, 2000; SANTOS et al., 2005). Nos bubalinos a brucelose apresenta as mesmas características que nos bovinos (AZEVEDO, 2006). Os cães são esporadicamente infectados pela *B. abortus* e geralmente resulta do contato de animais da zona rural com produtos de origem animal contaminados ou da ingestão de restos de abortamentos brucélicos, caracterizando-se pelo quadro clínico de transtornos reprodutivos e infertilidade (MIRANDA et al., 2005)

Em humanos o período de incubação da *B. abortus* varia de uma a cinco semanas, não obstante, podendo prolongar-se por meses (AZEVEDO, 2006). De início repentino ou insidioso, a doença é septicêmica com sintomas inespecíficos, apresentando diversas formas clínicas incluindo febre contínua, intermitente ou ondulante, fadiga, mialgia, artralgia, perda de apetite, constipação, dores generalizadas, perda de peso, dor de cabeça, depressão, artrites, hepato e esplenomegalia, enquanto muitas infecções transcorrem de forma assintomática (DIAS, 2004; YUMUK et al., 2007). Ressalte-se que a doença não é freqüentemente fatal, mas causa uma debilidade severa (CUTLER; CUTLER, 2006).

2.6 Importância para a saúde pública

Nos seres humanos a *B. abortus* apresenta um caráter principalmente ocupacional, e os indivíduos mais expostos são aqueles que trabalham diretamente com animais infectados (vaqueiros, pecuaristas, médicos veterinários) ou com órgãos, produtos, subprodutos, secreções e excreções contaminados (magarefes e laboratoristas) (FREITAS, 2001; MASSIS et al., 2005; POESTER; GONÇALVES; LAGE, 2002; SOFIAN et al., 2007). O homem também pode contrair a brucelose através do consumo de produtos de origem animal não

pasteurizados (COELHO et al., 2007) e já foi relatada também a transmissão via transplante de tecidos, contato sexual (MASSIS et al., 2005), transfusão sanguínea (DOGANAY; AYGEN; ESEL, [2000]) e pelo aleitamento materno (PESSEGUEIRO; BARATA; CORREIA, 2003). Outro aspecto epidemiológico de interesse na brucelose, com numerosos casos relatados anualmente, é a associação com o consumo de alimentos típicos contaminados durante viagens de turismo (PAPA; PAPADIMITRIOU, 2007). A incidência da brucelose humana varia consoante a densidade de rebanho, o grau de endemia animal, o nível sócio-econômico e os hábitos alimentares (PESSEGUEIRO; BARATA; CORREIA, 2003).

De acordo com a FAO, a OMS e a OIE, a brucelose é uma das mais importantes zoonoses no mundo (MIYASHIRO et al., 2007; POESTER, GONÇALVES & LAGE, 2002). Os pacientes com brucelose são tratados com uma variedade de antibióticos e combinações destas drogas, entretanto nenhum regime em uso é ótimo, na rotina clínica. As reincidências e fracassos no tratamento são de 10% para os regimes combinados e taxas maiores que 50% são encontradas nas monoterapias. O fracasso no tratamento e recaída são os principais determinantes da infecção persistente com sintomas focais ou severas complicações aumentando os gastos médicos e o sofrimento do paciente, determinando assim as perdas indiretas da brucelose com diagnóstico, internações prolongadas e diminuição da qualidade de vida do indivíduo (FRANCO; MULDER; SMITS, 2007).

2.7 Perdas econômicas relacionadas à brucelose

A brucelose causa importantes perdas econômicas na produção animal. De forma direta, como resultado da enfermidade clínica, têm-se os abortos, aumento do intervalo entre partos, redução de 15% na produção de bezerros, redução da fertilidade, decréscimo de 25% na produção de leite e carne, descartes de animais adultos reagentes e de produtos de origem animal,

reduzindo a oferta de alimentos à população humana (BRASIL, 2006a; CAMPOS et al., 2003; COELHO et al., 2007; CUTLER; CUTLER, 2006; KABAGAMBE et al., 2001; LUCAS, 2006; SILVA et al., 2005; SOFIAN et al., 2007; SOLORIO-RIVERA; SEGURA-CORREA; SÁNCHEZ-GIL, 2007).

A presença da brucelose torna a pecuária brasileira vulnerável às barreiras sanitárias e tarifárias, diminuindo a competitividade do país no comércio internacional. Barreiras não tarifárias têm sido empregadas para designar restrições relacionadas a regulamentos sanitários e de saúde, normas técnicas, padrões de segurança, dificuldades relativas à documentação, inspeção e outras práticas que podem dificultar ou mesmo impedir o comércio de animais. Este fato origina preocupações nos governos dos países produtores porque, além de causar diminuição da produção e da eficiência reprodutiva, também altera a viabilidade de comercialização. No Brasil, os prejuízos econômicos determinados pela brucelose foram estimados, em 1971, pelo MAPA, em US\$ 32 milhões de perdas anuais, considerando somente abortos e queda na produção leiteira (MONTEIRO et al., 2006)

2.8 Distribuição geográfica da brucelose

A brucelose é uma enfermidade de distribuição mundial com importantes variações de incidência e prevalência, concentrando maior número de focos no Mediterrâneo, Ásia Ocidental, África e na América, principalmente, nos Estados Unidos, México, Peru, Colômbia, Argentina e Brasil (CASTRO; GONZÁLEZ; PRAT, 2005; MASSIS et al., 2005; RAMOS et al., 2008; RUIZ-MESA et al., 2005).

Na Espanha e Itália estudos correlacionam a ocorrência da brucelose com o consumo de leite cru e seus derivados, em detrimento ao fator ocupacional (MASSIS et al., 2005; RAMOS et al., 2008). Segundo Kadohira et al. (1997) a brucelose bovina é prevalente em toda África, sendo determinada principalmente pela *B. abortus*. Muma et al. (2007) estudando esta enfermidade no Zâmbia, identificaram o contato com animais silvestres e a existência grandes rebanhos

como fator de risco para brucelose em bovinos. Darwesh e Benkirane (2001) isolaram a *B. abortus* em 34,58% dos fetos bovinos abortados na Síria. Na Arábia Saudita, Roth et al. (2003) observaram que 30% da população humana em estudo 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*, segundo Al-Ani et al. (2004). Na República Tcheca, Kouba (2003) afirma que antes de se adotar o programa de erradicação da brucelose as perdas econômicas do país eram em torno de US\$ 20 milhões e que aproximadamente mil pessoas estavam acometidas pela enfermidade.

No período de 1994 a 1998 foram registrados em 20 países da América 29.132 casos de brucelose em humanos, destes 54,5% na América do Norte, 44% na América do Sul, 1,3% no Caribe e 0,2% na América Central (USABIAGA, 2001). Lucero et al. (2007), estudando esta doença na América Latina, observaram a *B. melitensis* como a principal espécie determinante da brucelose humana e a *B. abortus* como a mais relevante em bovinos. Na América Central os bovinos foram identificados principais hospedeiros naturais da *Brucella* segundo RUIZ-MESA et al. (2005).

2.9 Brucelose no Brasil e no Maranhão

No Brasil, a brucelose bovina e humana é causada, principalmente, pela *B. abortus* (LUCERO et al., 2007). Esta espécie apresenta oito biovars: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9 e a cepa vacinal B19, entretanto desde 1985 somente os biovars 1, 2 e 3 foram isolados no território nacional (MIYASHIRO et al., 2007). A *B. melitensis* e *B. neotomae*, até o presente momento, não foram isoladas neste país (POESTER; GONÇALVES; LAGE, 2002).

A brucelose, causada por *B. abortus*, está disseminada por todo território nacional, entretanto a prevalência e a distribuição regional desta enfermidade não

estão bem caracterizadas. O último diagnóstico de situação em nível nacional foi realizado no ano de 1975, quando foi estimada a porcentagem de animais soropositivos em 4% na Região Sul, 7,5% na Região Sudeste, 6,8% na Região Centro-Oeste, 4,1% na região Norte e 2,5% na Região Nordeste (BRASIL, 2006a). De acordo com dados nacionais de notificações oficiais, a prevalência da brucelose em animais se manteve entre 4% e 5%, no período de 1988 a 1998. Atualmente o MAPA está desenvolvendo um estudo amostral da situação epidemiológica da brucelose bovina e bubalina no Brasil, atividade esta integrante do PNCEBT (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006).

No Maranhão, Matos (2004), ao pesquisar brucelose pelo leite cru comercializado informalmente na cidade de São Luís/MA, encontrou uma taxa de 10% de reação em 20 amostras de leite "in natura" submetidos ao teste do anel do leite de diversos bairros de São Luís; Nascimento (2000) encontrou a prevalência de 1,06% da enfermidade em 565 búfalos criados em dois municípios do Estado do Maranhão; Moura (2008), ao realizar uma investigação epidemiológica da brucelose no município de São Domingos do Maranhão, coletou soros de bovinos de propriedades rurais e no abatedouro municipal e obteve as prevalências de 2,50% e 2,56%, respectivamente. Enquanto Lopes (2003), avaliando a incidência de brucelose em bovinos abatidos em matadouros no município de São Luís - MA, encontrou a prevalência de 5,83% de bovinos reagentes e os municípios com maior índice de reações positivas foram Buriticupu - MA e Paulo Ramos - MA.

2.10 Diagnóstico da brucelose

O diagnóstico da brucelose bovina pode ser feito por métodos diretos, como o Isolamento e Identificação da bactéria, Imunohistoquímica e PCR que possuem a vantagem da alta especificidade, entretanto, são caros e necessitam de instalações e equipamentos especiais para manutenção da biossegurança. Os métodos indiretos de diagnóstico são mais rápidos, baratos e menos perigosos,

portanto mais utilizados usualmente. Têm-se como exemplos: o Teste do Anel do Leite (TAL), Teste com Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), Teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME), Teste de Fixação de Complemento (FC), Ensaio Imunoenzimático (ELISA) e Ensaio de Polarização Fluorescente, podendo ser classificados de acordo com a sua finalidade em teste de triagem, de monitoramento ou vigilância sanitária e testes confirmatórios (CASTRO; GONZALÉZ, PRAT, 2005; POESTER; SAMARINO; LAGE, 2005). Em humanos podem ser realizadas as mesmas técnicas de diagnóstico que nos animais (CASTRO; GONZALÉZ, PRAT, 2005; RAMOS et al., 2007, RUIZ-MESA et al., 2005).

A diversidade de animais suscetíveis à brucelose é um dos fatores que dificultam as ações de combate à enfermidade (CASTRO; GONZÁLEZ; PRAT 2005). No Brasil, a Instrução Normativa 06 (BRASIL, 2004) instituí as ações de combate à brucelose bovina baseada em ações de defesa sanitária compulsória, cuja finalidade é baixar a prevalência da enfermidade através da vacinação de bezerras e controle do trânsito de animais, complementadas por medidas de adesão voluntária, para agregar valor aos produtos de origem animal através da certificação de propriedades.

2.11 Prevenção e controle da brucelose

Na rotina zootécnica, o controle da brucelose bovina depende fundamentalmente de dois fatores no manejo dos rebanhos acometidos: a prevenção da exposição de animais suscetíveis à *B. abortus* (identificação, separação e sacrifício dos animais infectados, limpeza e desinfecção de instalações, destruição dos restos placentários e fetos abortados, utilização do piquete maternidade, realização de teste diagnóstico e quarentena nos animais introduzidos no plantel) e o aumento da resistência da população bovina à infecção através da vacinação contra a enfermidade (LAGE; POESTER; GONÇALVES, 2005).

A prevenção da brucelose humana depende do controle da enfermidade nos animais, devendo existir uma cooperação mais estreita entre os serviços de saúde animal e humana (COELHO et al., 2007; CUTLER; CUTLER, 2006; KO; SPLITTER, 2003; MASSIS et al., 2005; SOFIAN et al., 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa trata-se de um estudo epidemiológico analítico observacional transversal, desenvolvido segundo as etapas: seleção da área em estudo, população em estudo, amostragem dos rebanhos, coleta de dados e análise estatística.

3.1 Seleção da área em estudo

Esta pesquisa foi aprovada no Comitê de Ética e Experimentação Animal do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão (CEEV/CMV/UEMA), parecer nº 017/2008 (ANEXO A) e realizada durante o período de julho e agosto de 2008, nas propriedades rurais do município de São Francisco do Brejão, localizado na Região Tocantina, a 558 km de São Luís, com uma população de 8.431 habitantes e área territorial de 746 km² (IBGE, 2008).

De acordo com informações cadastrais da Unidade Veterinária Local (UVL), da Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED), atualizadas em novembro de 2007 (MARANHÃO, 2007), no município, a pecuária leiteira é predominante. São 441 propriedades que se apresentam voltadas à produção de leite de forma exclusiva ou mista e somente 06 propriedades com pecuária de corte. Entretanto até mesmo as fazendas com raças de aptidão zootécnica para produção de carne comercializam o leite produzido pelas matrizes, constituindo uma fonte alternativa de renda para o pecuarista. Estratificando-se os animais por faixa etária, observa-se que 39,24% (31.141 cabeças) do rebanho bovino do município é constituído por vacas e 25,51% (20.244 cabeças) por bezerros, caracterizando uma pecuária eminentemente leiteira pelo predomínio de fêmeas em idade de parição, alta natalidade e conseqüente produção de leite, em detrimento às demais faixas etárias onde os bovinos estão aptos ao abate. A relação novilha vaca é de 0,73 indicando que esta é uma área de ciclo completo.

3.2 População em estudo

A população estudada constituiu-se de bovinos, não vacinados contra brucelose, de ambos os sexos, com idade mínima de 8 meses e fêmeas vacinadas maiores de 24 meses, cujos proprietários aceitaram participar do estudo assinando o termo de consentimento livre e esclarecido.

Não foram incluídos neste estudo os bovinos machos castrados e fêmeas no puerpério, quinze dias antes ou quinze dias após o parto, de acordo com o regulamento técnico do PNCEBT (BRASIL, 2001; BRASIL, 2004; BRASIL, 2006a).

3.3 Amostragem dos rebanhos

Considerando que a prevalência média de brucelose entre os rebanhos no Brasil é de 30% (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006), foi calculado, primeiramente, o número de propriedades a ser amostrado, tomando um erro amostral de 10%, nível de confiança de 95% e, ajustando o tamanho da amostra pelo número total de rebanhos no município (441), encontrou-se 68 rebanhos.

As propriedades foram selecionadas por meio de amostragem aleatória simples com reposição, utilizando-se dos cadastros de propriedade da UVL de São Francisco do Brejão, conforme dados da UVL da AGED, permitindo assim que todas as propriedades tivessem a mesma probabilidade de fazerem parte na seleção. Para os casos em que o proprietário de uma propriedade selecionada não permitisse a coleta de material, ou por qualquer motivo o rebanho não estivesse disponível no momento da visita, foi calculado um saldo de 10% no número de propriedades selecionadas considerando possíveis perdas. Assim foram sorteadas ao todo 75 propriedades, mas nas ações de campo foi coletado o soro sanguíneo de bovinos em 69 propriedades.

Em cada rebanho selecionado os animais foram escolhidos de forma aleatória simples. Nas propriedades com rebanho bovino maior que 100 cabeças coletou-se amostras de 15 animais; onde o rebanho era menor ou igual a 100

cabeças, sagrou-se 10 animais. Nas propriedades em que o rebanho era de até 10 cabeças, todos os animais que não se enquadravam nos critérios de exclusão foram utilizados na amostra (BRASIL, 2001).

Fez-se o cálculo do número de animais considerando uma prevalência da brucelose bovina na ordem de 6% dentro do rebanho (BRASIL, 2006a), erro amostral de 2% e nível de confiança de 95%, obtendo um tamanho amostral mínimo de 560 bovinos. Entretanto, seguindo a metodologia acima descrita, 736 bovinos foram sangrados.

3.4 Coleta de Dados

A coleta de dados foi constituída pelas etapas de realização das provas sorológicas dos animais, aplicação do questionário epidemiológico e posteriormente pelo processamento dos dados obtidos nas etapas anteriores.

3.4.1 Provas sorológicas dos animais

Inicialmente, o proprietário foi esclarecido sobre o objetivo e a importância da pesquisa, preenchendo o termo de consentimento livre e esclarecido para a realização do estudo.

As amostras de sangue dos animais foram coletadas por punção venosa na veia jugular, após limpeza e desinfecção da área com álcool, utilizando-se de material descartável estéril de 10 ml, devidamente identificados com o número da propriedade, nome, sexo e idade do animal (vacutainer). As amostras eram mantidas em temperatura ambiente até ocorrer a coagulação e retração do coágulo. Ao retornar das atividades de campo as amostras eram centrifugadas a 2.000 rpm por 10 minutos, em centrífuga (Laborline, modelo Ômega), disponível na UVL de São Francisco do Brejão. Em seguida, os soros sanguíneos eram acondicionados, em duplicata, em tubos plásticos de polipropileno com

capacidade de 2 ml (eppendorf), previamente identificados de acordo com as informações registradas no vacutainer e estocados a -18°C até a realização dos testes no laboratório do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA). As amostras foram submetidas a duas provas sorológicas de acordo com o preconizado pelo MAPA na Instrução Normativa nº 06 de 08 de janeiro de 2004 (BRASIL, 2004). Como teste de triagem das amostras, realizou-se o AAT (TECPAR). Somente as amostras reagentes neste teste eram submetidas às provas de SAL (TECPAR) e 2-ME (MERK). O protocolo dos testes e interpretação dos resultados foram feitos de acordo a Instrução Normativa nº 41, de 24 de novembro de 2006 (BRASIL, 2006b), classificando-se como animal soropositivo aqueles que apresentaram reação ao 2-ME e, como foco da enfermidade, aquela propriedade em que o rebanho apresentasse pelo menos um animal soropositivo.

Os resultados dos exames foram enviados à UVL de São Francisco do Brejão e repassados aos respectivos proprietários (APÊNDICE A). Naqueles animais que apresentaram reação positiva foi aplicado o preconizado na Instrução Normativa Nº 06 de 08 de janeiro de 2004, abate sanitário dos animais em abatedouros com Inspeção Veterinária.

3.4.2 Aplicação do questionário epidemiológico

Em todas as propriedades estudadas, foi aplicado um questionário para avaliar o grau de risco de disseminação da doença no rebanho. Foram consideradas as variáveis de características sócio-demográficas da população humana, da sanidade animal, do hábito higiênico-alimentar da população e das características pecuárias da exploração rural, tais como: idade, sexo, renda e escolaridade do entrevistado; realização de exames de rotina contra brucelose, conduta do pecuarista quando existam animais reagentes no rebanho, ocorrência de aborto no rebanho bovino, vacinação de bezerras contra brucelose, destino dos fetos abortados e anexos fetais, solicitação de exames sorológicos contra

brucelose ao adquirir animais de outras propriedades; hábito de consumo do leite cru, presença de sinais clínicos indicativos de brucelose no rebanho bovino; avaliação do conhecimento das pessoas sobre os riscos desta enfermidade e demais medidas relevantes sobre a epidemiologia da brucelose (APÊNDICE B).

3.4.3 Processamento dos dados

Os dados coletados foram armazenados em dois bancos de dados específicos, criados no programa Epi Info versão 3.3.2.

No primeiro banco de dados o rebanho foi considerado a unidade epidemiológica em estudo (propriedade foco), contemplando 69 observações, possibilitando a determinação da relevância da enfermidade entre rebanhos. Já o segundo banco de dados apresentava 736 observações e considerou o animal como unidade epidemiológica de estudo, determinando assim a importância da brucelose para o indivíduo.

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

3.5 Análise Estatística

Primeiramente, estimou-se a prevalência de focos (rebanhos com pelo menos um animal soropositivo para brucelose) e a prevalência de animais soropositivos. Posteriormente, foi realizada uma análise estatística descritiva das variáveis em estudo. As variáveis quantitativas foram apresentadas por meio de média e desvio padrão e as qualitativas por freqüências e porcentagens.

Para a identificação dos fatores associados com a ocorrência de focos de brucelose no rebanho foi utilizado o modelo de regressão logística (HOSMER & LEMESHOW, 1998). Já para identificação dos fatores relacionados à ocorrência de brucelose entre os animais utilizou-se o modelo multinível com amostragem

complexa (RABE-HESKETH; SKONDRAL; PICKLES, 2004). As seções seguintes apresentam com maiores detalhes os modelos estatísticos.

3.5.1 Modelo logístico multivariado

Para construção do modelo logístico multivariado, a variável dependente foi definida da seguinte forma:

$$y_i = \begin{cases} 1, & \text{ocorrência de foco} \\ 0, & \text{não ocorrência de foco} \end{cases}$$

Seja $\pi_i = P(y_i = 1)$, com $0 < \pi_i < 1$, a probabilidade de ocorrer um foco no rebanho i . Assim, assumindo que os rebanhos são independentes, é natural modelar y_i por uma distribuição de Bernoulli com probabilidade π_i , denotada por:

$$y_i \sim \text{Ber}(\pi_i)$$

Assim, a probabilidade π_i está relacionada com as variáveis explicativas $x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{ip}$ através do seguinte modelo logístico:

$$\log \frac{\pi_i}{1 - \pi_i} = \beta_0 + \beta_1 x_{i1} + \dots + \beta_p x_{ip},$$

sendo $\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_p$ parâmetros desconhecidos, devendo, assim serem estimados.

Primeiramente, para identificar quais fatores estudados encontravam-se associados com a ocorrência de focos de brucelose no rebanho, foi utilizado o modelo de regressão logística univariada.

Em seguida, selecionamos as variáveis independentes que foram estatisticamente significantes. A seleção das variáveis do modelo logístico foi

realizada por um procedimento "passo a passo", conhecido como *stepwise* (APÊNDICE C) considerando-se 20% e 5% os níveis de significância para inclusão e exclusão de variáveis, respectivamente. Nesta etapa, também foram estimadas razões de chances (OR) e intervalos de confiança de 95%.

3.5.2 Modelo multinível com amostragem complexa

Neste estudo, o processo de amostragem foi realizado em dois estágios, uma vez que existe dependência das unidades do segundo estágio selecionadas dentro das mesmas unidades do primeiro estágio (ASSIS, 2005).

No primeiro estágio, foram selecionados os rebanhos (Unidade Primária de Amostragem - UPA), e no segundo estágio, os animais dentro destes rebanhos (Unidade Final de Amostragem - UFA), resultando em probabilidades desiguais de seleção dos animais.

Assim, considerando a estrutura complexa do processo amostral na avaliação dos fatores relacionados com brucelose nos bovinos, houve a necessidade de incorporar, na modelagem estatística, informações do plano amostral para a identificação dos fatores relacionados à ocorrência de brucelose entre os animais (RABE-HESKETH; SKONDRAL; PICKLES, 2004). Para isto, utilizou-se o modelo multinível considerando os dois estágios de amostragem e probabilidades desiguais de seleção dos animais, atendendo às necessidades específicas do desenho amostral (OLIVERA et al., 2007; RABE-HESKETH; SKONDRAL, 2006).

A inclusão dos pesos da seleção fornece informação sobre quantos animais estavam representados dentro de cada unidade amostrada (CHANTALA; BLANCHETTE; SUCHINDRAN, 2006). Dessa forma, os pesos foram assim definidos:

- UPA ou unidade de nível 2 - o peso do rebanho j (upa_{ps_j}) foi calculado como o inverso da probabilidade do rebanho j ($prob_j$) ser

selecionado na estrutura amostral, assim definida:

$$upa_ps_j = \frac{1}{prob_j}$$

Sendo:

$$prob_j = \frac{\text{n}^\circ \text{ de rebanhos amostrados}}{\text{n}^\circ \text{ total de rebanhos cadastrados na UVL}}$$

- UFA ou unidades de nível 1 - o peso (ufa_ps_{ij}) foi calculado como o inverso da probabilidade do animal i ser selecionado no rebanho j ($prob_{ij}$), de acordo à fórmula abaixo demonstrada:

$$ufa_ps_{ij} = \frac{1}{prob_{ij}}$$

Com a $prob_{ij}$ definida de acordo com as situações abaixo:

1) Rebanhos maiores que 100 cabeças de bovinos:

$$prob_{ij} = \frac{15}{\text{n}^\circ \text{ de bovinos na propriedade}}$$

2) Rebanhos entre 100 e 10 cabeças de bovinos:

$$prob_{ij} = \frac{10}{\text{n}^\circ \text{ de bovinos na propriedade}}$$

3) Rebanhos abaixo de 10 cabeças de bovinos:

$$prob_{ij} = 1$$

Por fim, o peso amostral é calculado como segue:

$$Ps_{i,j} = upa_ps_j \times ufa_ps_{ij}$$

Após o cálculo do peso amostral dos dados, foi construído o modelo logístico multinível em dois estágios, com a variável dependente dada por:

$$y_{ij} = \begin{cases} 1, & \text{se o animal } i \text{ do rebanho } j \text{ é soropositivo} \\ 0, & \text{caso contrário.} \end{cases}$$

Assim, a probabilidade π_{ij} do animal i do rebanho j ser soropositivo é dada por:

$$\log \frac{\pi_{ij}}{1 - \pi_{ij}} = \beta_0 + \beta_{ij} x_{ij} + \dots + \beta_p x_p$$

O modelo acima foi implementado utilizando-se o comando *gllamm* do programa STATA 9.0 (APÊNDICE D). Foi realizada a análise univariada de cada variável independente com a variável resposta, selecionando-se aquelas que apresentavam um p-valor < 0,20 para integrarem o modelo multivariado. Permaneceram no modelo aquelas variáveis independentes que apresentaram p-valor < 0,05, na análise multivariada. Ainda foram estimadas razões de chances (OR) e intervalos de confiança de 95%.

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos a partir do cruzamento de dados das informações fornecidas pelos criadores nas entrevistas de preenchimento do questionário epidemiológico e os resultados laboratoriais dos exames sorológicos dos animais geraram informações sobre a prevalência da enfermidade, caracterização epidemiológica da amostra e fatores de risco para disseminação da brucelose entre os animais e entre propriedades.

4.1 Prevalência da brucelose

No período de julho a agosto de 2008, foram analisados 736 soros distribuídos em 69 propriedades diferentes, obtendo-se um resultado de 34 animais com reação sorológica positiva, no teste do AAT e 29 confirmados ao SAL e 2ME, determinando assim 21 focos.

Observou-se a soroprevalência da enfermidade em bovinos na ordem de 3,94% (IC 95%: 2,65% - 5,61%). Quanto à prevalência da enfermidade entre rebanhos, ou seja, analisando-se as propriedades foco, obteve-se uma proporção de 30,43% (IC 95%: 19,92% - 42,69%).

4.2 Caracterização epidemiológica da amostra

Quanto à idade dos animais submetidos aos testes sorológicos constatou-se que variou de 8 a 180 meses, numa média de 64,5 meses.

Em todas as propriedades visitadas foi preenchido o questionário avaliativo. Quanto à profissão exercida pelos entrevistados, encontrou-se 32 (46,38%) agricultores, 06 (8,70%) vaqueiros, 18 (26,09%) pecuaristas e 13 (18,84%) com profissões não ligadas à agropecuária.

Avaliando-se a escolaridade declarada, observou-se que 12 (17,39%) eram analfabetos, 32 (46,38%) tinham o ensino fundamental incompleto, 06 (8,70%) apresentavam o ensino fundamental completo, 05 (7,24%) ensino médio incompleto, 07 (10,14%) ensino médio completo, 02 (2,90%) apresentavam curso técnico e 05 (7,24%) tinham ensino superior completo.

No grupo estudado 26 (37,68%) participantes declararam ter uma renda familiar mensal acima de R\$ 3.000,00; 09 (13,04%) recebiam entre R\$ 2.000,00 e R\$ 3.000,00; 12 (17,39%) ganhavam entre R\$ 1.000,00 e R\$ 1.999,00; enquanto outros, 22 (31,88%) entrevistados, apresentavam um rendimento mensal inferior a R\$ 1.000,00 (Figura 1).

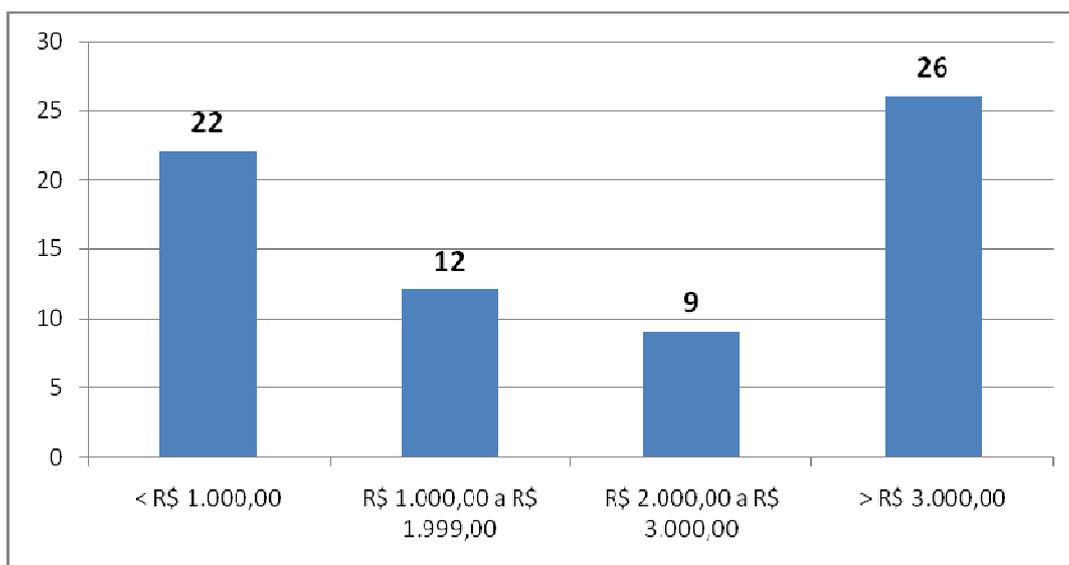


Figura 1 - Renda familiar mensal dos entrevistados nas propriedades rurais de São Francisco do Brejão – MA, 2008.

Em todas as propriedades a ordenha era manual e o manejo do gado era extensivo. A reprodução animal, em 63 (91,30%) propriedades, era realizada exclusivamente com monta natural, em 06 (8,70%) propriedades, associava-se esta prática à inseminação artificial.

Quanto ao tipo de pecuária, observou-se uma predominância da pecuária leiteira com 39 (56,52%) propriedades, em comparação à pecuária de corte e a mista, com 05 (7,25%) e 25 (36,23%) propriedades, respectivamente.

As propriedades estudadas apresentaram um rebanho bovino médio de 313 cabeças, variando entre 07 a 2.480 animais.

A área média das propriedades estudadas é de 308,58 ha, variando entre 19,40 a 7.744 ha, numa densidade de rebanho média de 1,65 bovinos/ha.

O número médio de fêmeas ordenhadas nas propriedades é de 42 vacas, variando num mínimo de 02 ao máximo de 200 fêmeas produzindo leite diariamente.

As propriedades produziam em média 182,19L de leite/dia/rebanho. Entretanto, havia propriedades onde a produção de leite se destinava apenas ao consumo dos bezerros, sem nenhum excedente, até aquelas onde a produção diária alcançava 1.350L de leite/dia. No geral a produção média por vaca é de 4,34L de leite/dia, no município de São Francisco do Brejão.

O escoamento da produção leiteira era destinado, em 43 (62,32%) propriedades, aos laticínios da região, 04 (5,80%) forneciam leite direto ao mercado consumidor e 22 (31,88%) enviavam o leite às queijeiras locais.

Foi relatado pelos entrevistados que em média o intervalo entre partos das vacas era de 13,01 meses, variando de 10 a 18 meses.

Dos proprietários entrevistados, 40 (57,97%) declararam vacinar as bezerras contra a brucelose e 29 (42,03%) não as imunizavam. Entretanto, daqueles que vacinavam o rebanho, 21 (52,50%) iniciaram essa prática há dois anos ou menos, 03 (7,50%) vinham adotando essa medida no rebanho há três ou quatro anos consecutivos e 16 (40%) imunizavam as fêmeas há mais de quatro anos.

Observou-se que, dentre os rebanhos onde a vacinação contra brucelose era realizada, 26 (65%) destes eram vacinados por médico veterinário, 13 (32,50%) vinham sendo vacinados pelos próprios servidores da fazenda e apenas um (2,50%) era vacinado por um prático da região.

Analisando a presença de demais espécies animais nos rebanhos, encontrou-se que todas as propriedades apresentavam rebanhos de equídeos e somente duas propriedades apresentavam caprinos (Figura 2).

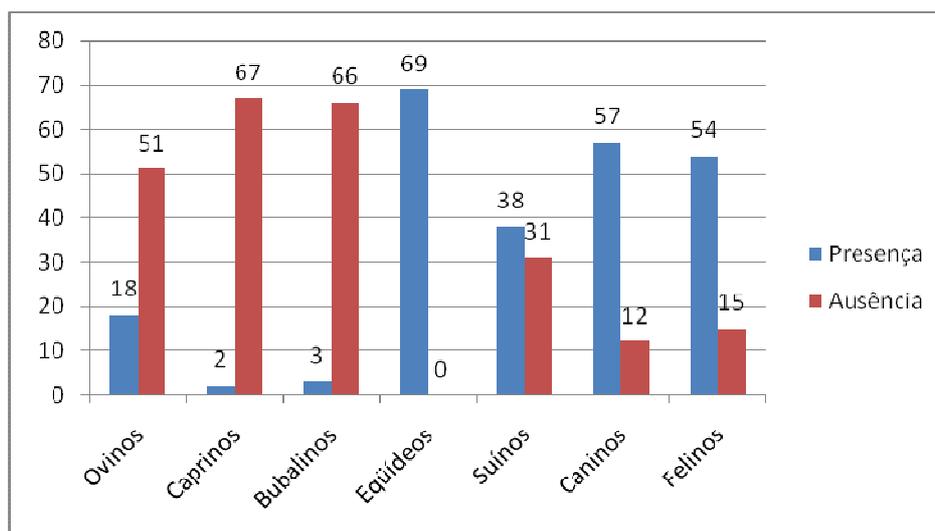


Figura 2 - Presença de demais espécies animais nas propriedades rurais estudadas no município de São Francisco do Brejão - MA, 2008.

Dos proprietários entrevistados, 43 destes (62,32%) afirmaram não haver animais silvestres na área da propriedade, enquanto 26 outros (37,68%) relataram o contrário.

Na maior parte das propriedades estudadas, em 34 delas (49,28%) houve ocorrência de abortos no último ano, em 26 (37,68%) propriedades não houve abortos e em 09 (13,04%) fazendas o entrevistado não sabia responder se as vacas haviam abortado.

Com relação ao destino dado aos restos de aborto, 48 (69,56%) dos entrevistados deixavam-nos no pasto, 11 (15,94%) afirmaram enterrá-los, 04 (5,80%) incineravam, 02 (2,90%) permitiam que os cães se alimentassem dos tecidos abortados e o restante (5,80%) não informaram qual prática adotavam.

Dentre as propriedades selecionadas, 40 (57,97%) apresentavam com frequência retenção placentária em vacas e 29 (42,03%) não apresentavam este problema.

Foi relatada em 25 (36,23%) propriedades a ocorrência de nascimento de bezerros fracos, as outras 44 (63,77%) não enfrentavam o problema.

Das 69 propriedades que participaram da pesquisa, 51 (73,91%) não realizavam exame de brucelose no rebanho, somente 18 (26,09%) faziam testes de diagnóstico contra esta enfermidade.

Entre as propriedades que faziam exames de brucelose no rebanho, (27,78%) faziam as provas sorológicas eventualmente e (22,22%) anualmente. A regularidade desta prática esteve ligada aos seguintes fatos: necessidade de vender animais (27,78%); compra de animais de outras propriedades (5,56%); ocorrência de aborto (5,56%);

Analisou-se também o posicionamento do pecuarista quanto ao destino dado aos animais suspeitos de brucelose no rebanho. Em 44 (63,77%) propriedades, o pecuarista não identificou animais suspeitos no rebanho. Dentre as que identificaram animais suspeitos, 11 (15,94%) propriedades os abatiam no matadouro local, 08 (11,59%) faziam-no em matadouros de outra região, 05 (7,25%) proprietários vendiam os bovinos para outros criadores e em uma propriedade (1,45%) foi relatado que os animais suspeitos eram abatidos na própria fazenda.

Nas propriedades rurais de São Francisco do Brejão, observou-se que a maioria dos criadores, 37 (53,62%) propriedades, comprava bovinos de outros criadores da própria região, 23 (33,33%) entrevistados afirmaram não repor animais, 07 (10,14%) propriedades faziam opção por comprar animais de outras regiões, em uma (1,45%) propriedade existia a troca de animais com outros pecuaristas e somente uma (1,45%) propriedade, adquiria animais em leilões ou exposições.

Nas propriedades que repunham os animais do rebanho, em 16 (34,78%) foi relatado que a faixa etária de preferência na aquisição de animais é de 13 a 24 meses, em 11 (23,91%) propriedades constatou-se predileção na compra de animais com até 12 meses. A compra de animais com faixa etária acima dos 36 meses foi mais freqüente em 11 (23,91%) propriedades, enquanto em 08 (17,39%) propriedades havia preferência por obter animais entre 24 a 36 meses.

Entre as propriedades que faziam reposição do seu plantel bovino, observou-se que 33 (71,74%) proprietários entrevistados tinham preferência por

adquirir fêmeas, 11 (23,91%) preferiam os animais machos e 02 (4,35%) entrevistados adquiriam ambos os sexos em proporção semelhante.

Analisou-se também a finalidade com que os criadores repunham os bovinos do plantel. De acordo com as respostas fornecidas, destaca-se a finalidade de reprodução em 32 (69,57%) propriedades, seguida da finalidade de engorda em 12 (26,09%) propriedades e recria em 02 (4,35%) propriedades.

Entre as propriedades que adquirem animais, somente 05 (10,87%) destas exigiam o exame de brucelose do animal, enquanto as outras 41 (89,13%) propriedades estudadas não o solicitavam.

Dentre as 69 propriedades estudadas, observou-se que 57 (82,61%) não alugavam seus pastos a outros criadores e 12 (17,39%) adotavam esta prática. Entretanto, quando os mesmos criadores foram questionados quanto à necessidade de alugar pasto de outras propriedades para seus rebanhos, constatou-se que em 33 propriedades (47,83%) os criadores alugavam pasto em outra propriedade e levavam o gado para alimentar-se neste local e 36 propriedades (52,17%) não tinham essa necessidade.

Em 58 (84,06%) propriedades estudadas, os criadores relataram a existência de piquete maternidade, enquanto 11 (15,94%) não apresentavam um local separado para a parição das fêmeas bovinas.

Das propriedades analisadas em São Francisco do Brejão, 25 (36,23%) não recebiam assistência técnica no manejo do gado, outras 23 (33,33%) propriedades somente requisitavam assistência médica veterinária, eventualmente, de acordo com a necessidade, em 17 (24,64%) propriedades um veterinário autônomo dava assistência à propriedade e 04 (5,80%) outras solicitavam os serviços do médico veterinário da AGED no município.

Em 38 (55,07%) propriedades, o gado tinha acesso à água corrente ou em grande quantidade para dessedentação, enquanto em 31 (44,93%) os bovinos contavam com pequenas coleções de água para seu consumo.

Poucas foram as propriedades que apresentaram pastos em comum com outras fazendas. Em 19 (27,54%), delas encontrou-se esta situação, enquanto 50

(72,46%) propriedades apresentavam pastos independentes, sem contato entre animais de outros criadores.

Analisando-se a movimentação de animais, registrada na UVL de São Francisco do Brejão, nos anos de 2007 e 2008, observou-se que em média as propriedades estudadas fizeram aproximadamente 12 movimentações no período, observando-se extremos entre aquelas que não tiveram nenhuma movimentação registrada até outras que fizeram 209 movimentações no biênio.

Quanto ao sexo dos animais testados, houve uma predominância de fêmeas, foram 683 fêmeas (92,80%) sangradas frente a 53 (7,20%) machos.

Analisando as práticas de manejo que podem expor o trabalhador rural ao risco de contrair a brucelose no exercício profissional, foi constatado que em média duas pessoas manejavam diretamente o gado nas propriedades estudadas, variando entre o mínimo de uma pessoa responsável pelo rebanho até 12 funcionários envolvidos no trato com os animais.

Constatou-se ainda que, em 47 (68,12%) propriedades, as pessoas envolvidas no manejo do gado não manuseavam os restos de abortos, já em 22 (31,88%) outras propriedades, este fato ocorria.

Foi relatado, em 48 (69,57%) propriedades estudadas, que os funcionários realizavam partos de vacas sem uso de luvas, em 21 (30,43%) outras propriedade, os partos eram feitos com uso de luvas de proteção.

Em média destinava-se 2,75L de leite/dia para o consumo interno dos moradores e/ou trabalhadores da própria fazenda, variando entre 12L de leite/dia, inclusive em propriedades cujo leite se destina à comercialização.

Em 57 (82,61%) propriedades, o leite era fervido antes do consumo humano, nas outras 12 (17,39%) propriedades, esta prática não era adotada.

Grande parte dos entrevistados, 62 (89,86%) conhecia a brucelose e 07 (10,14%) nunca haviam ouvido falar na enfermidade. Detalhando mais o conhecimento dos entrevistados sobre a doença, 53 (76,81%) afirmaram que a brucelose é uma zoonose e 16 (23,19%) acreditavam que não. Entretanto 43 (62,32%) entrevistados não sabiam como o homem poderia contrair a doença e outros 26 (37,68%) citaram possíveis formas de contágio.

Quanto aos aspectos da enfermidade no rebanho, 42 (60,87%) entrevistados conheciam os sinais clínicos indicativos da brucelose, enquanto 27 (39,13%) entrevistados não os conheciam. Em 49 (71,01%) propriedades desconheciam-se as formas de transmissão da enfermidade entre os animais e em 20 (28,99%) propriedades, os entrevistados conheciam as possíveis formas de contágio.

4.3 Fatores de risco associados à disseminação da brucelose entre rebanhos

Como fatores relacionados à presença de foco de brucelose nas propriedades, na análise multivariada, foram detectados o tamanho do rebanho bovino (OR=4,44, IC 95%=[0,66 - 28,91]), o tamanho da área da propriedade (OR=0,23, IC 95%=[0,06 - 0,85]), o número de vacas em ordenha (OR=2,48, IC 95%=[0,86 - 7,11]), o intervalo entre partos (OR=0,43, IC 95%=[0,13 - 1,39]), a produção diária de leite (OR=2,20, IC 95%=[0,76 - 6,36]), a presença de ovinos (OR=0,36, IC 95%=[0,09 - 1,44]), o tamanho do rebanho suíno (OR=0,28, IC 95%=[0,05 - 1,39]), o hábito de deixar os restos placentários abortados no pasto (OR=3,60, IC 95%=[0,92 - 13,95]), a compra de animais de criadores de outra região (RR=7,18, IC 95%=[1,26 - 40,77]), a reposição dos bovinos por finalidade (OR=2,83, IC 95%=[0,65 - 12,23]), o pasto comum com outras propriedades (OR=0,33, IC 95%=[0,08 - 1,30]), a exigência de atestado na compra de animais (OR=3,65, IC 95%=[0,53 - 24,51]) e o número de movimentações de bovinos registradas na AGED (OR=8,25, IC 95%=[2,16 - 31,49]), como apresentado na Tabela 3.

Tabela 1 - Modelo de regressão logística univariada dos fatores de risco mais associados à ocorrência de foco de brucelose bovina nas propriedades rurais amostradas em São Francisco do Brejão - MA, 2008.

Variável	Rebanho/propriedade			
	Doentes/expostos	%	OR	p-valor
TAMANHO DO REBANHO BOVINO				
Até 611 cabeças	15/59	25,42		
611 a 1222	3/5	60	4,44	0,123
>1222	3/5	60	4,44	0,123
ÁREA DA PROPRIEDADE				
<= 355 ha	7/12	58,33		
>355 há	14/57	24,56	0,23	0,027
VACAS EM ORDENHA				
<=40 cab	8/37	21,62		
>40 cab	13/32	40,62	2,48	0,091
INTERVALO ENTRE PARTOS				
<=12 meses	16/44	36,36		
> 12 meses	5/25	20	0,43	0,161
PRODUÇÃO DE LEITE/DIA				
<= 150 L	11/45	24,44		
>150 L	10/24	41,66	2,20	0,143
PRESENÇA DE OVINOS				
Sim	18/51	35,29		
Não	3/18	16,66	0,36	0,150
REBANHO DE SUÍNOS				
Até 14 cabeças	19/54	35,18		
>14 cabeças	2/15	13,33	0,28	0,120
RESTOS DE ABORTO NO PASTO				
Sim	3/21	14,28		
Não	18/48	37,5	3,60	0,064
COMPRA DE ANIMAIS DE CRIADORES DE OUTRA REGIÃO				
Sim	16/62	25,80		
Não	5/7	71,42	7,18	0,026
REPOSIÇÃO DE ANIMAIS POR FINALIDADE				
Não repõe	6/23	26,08		
Reprodução	8/32	25	0,94	0,927
Recria	1/2	50	2,83	0,485
Engorda	6/12	50	2,83	0,164
PASTO COMUM COM OUTRAS PROPRIEDADES				
Sim	18/50	36		
Não	3/19	15,79	0,33	0,114
EXIGÊNCIA DE ATESTADO NA COMPRA DE ANIMAIS				
Sim	3/5	60		
Não	12/41	29,27	3,65	0,187
MOVIMENTAÇÕES DE BOVINOS REGISTRADAS				
Até 13 emissões de GTA	12/56	21,43		
+13 emissões de GTA	9/13	69,23	8,25	0,002

No modelo de regressão logístico multivariado para focos de brucelose em propriedades, foram incluídas as variáveis cujo p-valor foi menor que 0,20. O modelo final (Tabela 4) mostrou que propriedades com número elevado de movimentação de bovinos registrada na AGED (OR=9,50, IC 95%=[2,16 - 41,80]) e, onde, no manejo do rebanho, os restos de aborto são deixados no pasto (OR=5,54, IC 95%=[1,14 - 26,13]), apresentavam maiores chances de terem pelo menos um animal soropositivo para a brucelose bovina no rebanho. Enquanto que em propriedades onde existiam práticas de pastos em comum com outras fazendas (OR=0,20, IC 95%=[0,04 - 0,99]) havia menos chances de se encontrar animais infectados no rebanho.

Tabela 2 - Análise multivariada dos fatores de risco para ocorrência de foco de brucelose bovina nas propriedades rurais estudadas no município de São Francisco do Brejão - MA, 2008.

Variável	Propriedade		
	OR	IC 95%	p-valor
Movimentações de animais registradas	9,50	2,16 – 41,80	0,003
Pasto em comum entre propriedades	0,20	0,04 – 0,99	0,049
Restos de aborto no pasto	5,54	1,14 - 26,13	0,034

4.4 Fatores de risco associados à disseminação da brucelose entre os bovinos

Na tabela 3, são apresentados os resultados da análise univariada do modelo multinível com relação aos fatores associados à ocorrência da brucelose entre os animais, conforme discriminação a seguir: a idade média dos bovinos (OR=5,47, IC 95%=[1,67 – 17,65]), o tamanho do rebanho bovino (OR=7,98, IC 95%=[0,83 - 73,92]; OR=9,60, IC 95%=[0,57 – 160,21]), o tamanho da área da propriedade (OR=26,23, IC 95%=[3,69 – 186,28]), a presença de caprinos (OR=9,72, IC 95%=[0,99 - 94,71]), a presença de bubalinos (OR=22,97, IC 95%=[3,63 - 145,10]), a presença de suínos (OR=0,13, IC 95%=[0,01 - 1,11]), o presença de animais silvestres (OR=38,97, IC 95%=[3,13 - 484,72]; OR = 0,83, IC 95%=[0,03 - 21,53]; OR=9,51, IC 95%=[0,97-93,44]), adquirir bovinos com a

finalidade de engorda (OR=1,94, IC 95%=[1,16 - 3,24]), o exigir atestado contra brucelose no ato da compra de bovinos (OR=0,98, IC 95%=[0,96 - 1,00]), alugar pasto na propriedade (OR=17,33, IC 95%=[1,71 - 174,99]), os animais fazem a dessedentação em pequenas coleções de água (OR=7,47, IC 95%=[0,95 - 58,58]), o número de vacas de ordenha (OR= 11,82, IC 95%=[1,81-77,10]), produção diária de leite (OR=7,75, IC 95%=[1,09 - 54,71]), o comprar bovinos de criadores de outra região (OR=18,44, IC 95%=[2,27 – 149,46]) e o número de movimentações de bovinos registradas (OR=22,25, IC 95%=[4,12 - 120,23]) apresentaram relação estatisticamente significativa com a infecção dos animais pela brucelose.

Tabela 3 – Análise univariada do modelo multinível dos fatores de risco mais associados à brucelose bovina, em São Francisco do Brejão - MA, 2008.

Variável	Animais			
	Doentes/expostos	%	OR	p-valor
IDADE DOS ANIMAIS				
Até 63 meses	8/298	2,68		
>64 meses	19/411	4,62	5,47	0,005
TAMANHO DO REBANHO BOVINO				
Até 611 cabeças	19/600	3,16		
611 a 1222	4/58	6,89	7,98	0,067
>1222	6/49	12,24	9,60	0,115
ÁREA DA PROPRIEDADE				
<= 355 ha	26/690	4,06		
>355 ha	3/17	17,64	26,23	0,001
PRESEÇA DE CAPRINOS				
Não	28/686	4,08		
Sim	1/21	4,76	9,72	0,050
PRESEÇA DE BUBALINOS				
Não	27/674	4,00		
Sim	2/33	6,06	22,97	0,001
PRESEÇA DE SUÍNOS				
Não	13/290	4,48		
Sim	16/417	3,83	0,13	0,063
PRESEÇA DE ANIMAIS SILVESTRES				
Não	20/429	4,66		
Veados	2/22	9,09	38,85	0,004
Capivaras	2/132	1,51	0,83	0,914
Outros	5/153	3,26	9,51	0,055
AQUISIÇÃO DE ANIMAIS PARA FINALIDADE DE ENGORDA				
Não	20/561	3,56		
Sim	9/146	6,16	7,12	0,036
ATESTADO DE BUCELOSE NA COMPRA DE BOVINOS				
Não	26/289	8,99		
Sim	3/47	6,38	0,98	0,075
ALUGUEL DE PASTO NA PROPRIEDADE				
Não	18/597	3,01		
Sim	9/112	8,03	17,33	0,016
DESSEDENTAÇÃO EM PEQUENAS COLEÇÕES DE ÁGUA				
Não	17/381	4,46		
Sim	12/326	3,68	7,47	0,055
VACAS EM ORDENHA				
<=40 cab	9/359	2,50		
>40 cab	20/348	5,75	11,82	0,010
PRODUÇÃO DE LEITE/DIA				
<= 150 L	14/412	3,39		
>150 L	15/265	5,66	7,75	0,040
COMPRA DE ANIMAIS DE CRIADORES DE OUTRA REGIÃO				
Não	21/628	3,34		
Sim	8/79	10,12	18,44	0,006
MOVIMENTAÇÕES DE BOVINOS REGISTRADAS				
Até 13 emissões de GTA	16/555	2,88		
+13 emissões de GTA	13/152	8,55	22,25	<0,001

No modelo multinível multivariado, foram incluídas as variáveis cujo p-valor foi menor que 0,20. O modelo final mostrou que bovinos acima de 64 meses de idade (OR=5,28, IC 95%=[0,05 - 0,06]) apresentavam maiores chances de serem soropositivos para a brucelose bovina e a prática de alugar pasto na propriedade (OR = 13,07, IC 95% = [2,21 - 77,23]) também fora identificado como fator de risco para a enfermidade nos animais (Tabela 4).

Tabela 4 - Análise multivariada do modelo multinível de fatores de risco para brucelose em bovinos nas propriedades rurais estudadas no município de São Francisco do Brejão - MA, 2008.

Variável	Animais		
	OR	IC 95%	p-valor
Idade dos bovinos	5,28	1,59 – 17,55	0,007
Aluguel de pasto da propriedade	9,59	1,34 – 68,60	0,024

5 DISCUSSÃO

Em São Francisco do Brejão – MA, encontrou-se uma prevalência de 3,94% (IC 95% [2,53% - 5,34%]) de bovinos soropositivos e 30,43% (IC 95% [19,30% - 41,57%]) de propriedades foco, apontando que a brucelose é um problema preocupante na região. Estudos realizados no México por Solorio-Rivera, Segura-Correa e Sánchez-Gil (2007) mostraram que a prevalência da brucelose dentro do rebanho bovino é de 9,8% e o alto número de propriedades com pelo menos um animal positivo indica que o microrganismo está disseminado na região. Muma et al. (2007) e Omer et al. (2000), pesquisando o comportamento da brucelose bovina observaram, respectivamente, 62% de rebanhos soropositivos no Zâmbia e 35,9% de rebanhos soropositivos com 8,5% dos animais reagentes em Asmara. No Kênia, segundo Kadohira et al. (1997), o distrito de Kiambu apresentava uma prevalência da brucelose nos rebanhos bovinos de 15%.

Tendo-se por base dados de pesquisas nacionais, a prevalência de brucelose entre animais em São Francisco do Brejão apresenta-se ligeiramente abaixo dos dados de notificações oficiais no Brasil, durante o período de 1988 a 1998, que variavam de 4% a 5% (BRASIL, 2004; POESTER; GONÇALVES; LAGE, 2002), também inferior ao encontrado por Monteiro et al. (2006) num estrato do Mato Grosso do Sul onde 6,6% dos animais eram soropositivos e por Negreiros (2006) que encontrou no Mato Grosso uma prevalência de 10,25% em animais e, de acordo ainda, com o relatório parcial da situação epidemiológica da brucelose bovina e bubalina no Brasil (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006) a prevalência desta enfermidade nos bovinos de São Francisco do Brejão é inferior ao encontrado nos Estados do Tocantins (5,27%; IC 95% 4,22 - 5,31) e Rondônia (6,22%; IC 95% 4,88 - 7,55)

Resultados semelhantes ao encontrado nesta pesquisa foram observados em bovinos no Rio de Janeiro (4,10%; IC 95% 2,85 - 5,35), no Espírito Santo (3,53%; IC 95% 1,43 - 5,63), em Goiás (3,01%; IC 95% 2,69 - 3,33)

(UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006) e em São Paulo (3,81%; IC 95% 0,72 - 6,90) (DIAS, 2004).

Prevalências inferiores a esta pesquisa foram observadas em bovinos no Rio Grande do Sul (1,01%; IC 95% 0,60 - 1,42), no Paraná (1,73%; IC 95% 1,10 - 2,36), em Minas Gerais (1,09%; IC 95% 0,78 - 1,41), na Bahia (1,34%; IC 95% 0,80 - 1,87), em Sergipe (2,14%; IC 95% 1,35 - 2,93) (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006) e na Paraíba (0,34%) (Leite, 2003).

No Maranhão, Lopes (2003) encontrou uma prevalência de brucelose em bovinos com bursite cervical em matadouros de São Luís - MA de 5,83%; Silva (2000), ao realizar um estudo sobre brucelose bovina, no período de 1997 a 1998, no município de Riachão - MA, relatou a ocorrência de 12 (8,45%) animais positivos para brucelose e Akashi (1998), estudando a prevalência de brucelose animal e humana em 02 matadouros do município de Imperatriz - MA, examinaram 660 soros bovinos encontrando 36 (9,39%) e 9 (3,24%) animais com reação positiva nos matadouros estudados.

Quanto à prevalência de focos de brucelose, em propriedades com pelo menos um animal soropositivo, o resultado encontrado em São Francisco do Brejão é superior aos achados nos estados de São Paulo (9,70%; IC 95% 7,80 - 11,60) por Dias (2004), Espírito Santo (9,00%; IC 95% 6,73 - 11,27) (AZEVEDO, 2006), Rio Grande do Sul (2,00%; IC 95% 1,44 - 2,56), Paraná (4,015%; IC 95% 3,23 - 4,80), Minas Gerais (6,04%; IC 95% 4,98 - 7,10), Rio de Janeiro (15,48%; IC 95% 12,99 - 17,97), Bahia (4,30%; IC 95% 3,19 - 5,41), Sergipe (11,24%; IC 95% 7,97 - 14,52), Goiás (16,20%; IC 95% 13,79 - 18,61), Tocantins (20,99%; IC 95% 19,12 - 22,86) (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006).

A prevalência de focos de brucelose bovina encontrada em São Francisco do Brejão é inferior ao observado nos Estados do Mato Grosso do Sul (37,3%) (MONTEIRO et al., 2006), Mato Grosso (41,19%; IC 95% 38,00 - 44,39) (NEGREIROS, 2006) e Rondônia (34,57%; IC 95% 31,49 - 37,65) (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006).

Com base nos resultados das pesquisas acima citadas observou-se que o comportamento epidemiológico da enfermidade não difere daquele encontrado

nacional e internacionalmente, onde tem-se uma maior relevância da brucelose com relação à unidade epidemiológica no rebanho que no indivíduo, devido ao baixo potencial de disseminação da enfermidade (TOMA, 2004). Além disso, os valores das prevalências da brucelose nos rebanhos e nos indivíduos apresentam-se semelhantes ao encontrado em outros Estados da federação.

A análise dos dados sócio-econômicos do questionário indicou que os entrevistados desempenhavam em sua maioria atividades profissionais diretamente ligadas ao setor agropecuário, ou seja, profissionalmente ligados ao campo, somente 18,84% destes tinham outras profissões. Com relação à escolaridade, observou-se que o nível de escolaridade é baixo, grande parte do grupo estudado era de analfabetos (17,39%) ou com ensino fundamental incompleto (46,38%) e, com relação ao aspecto econômico, ficou demonstrada a discrepância econômica com os extremos bem marcados, caracterizando um desnível econômico no local. Contudo, nenhuma destas variáveis apresentou significância estatística ($p > 0,20$) ao ponto de ser inserida nos modelos multivariados multinível e logístico de identificação de riscos da enfermidade entre os animais ou de focos da doença, respectivamente. Coelho et al. (2007), pesquisando sobre a brucelose em Portugal observaram que a atividade pecuária era a principal ocupação das pessoas que foram entrevistadas e o nível de escolaridade era superior ao encontrado em São Francisco do Brejão, mas ambas sem relevância estatística no modelo proposto pelos mesmos. Também a ocupação e o nível educacional dos entrevistados não foram importantes fatores de risco para brucelose humana no Irã, de acordo com Sofian et al. (2007). Pode-se considerar a influência, na seleção da amostra, determinando colinearidade de informações já que o grupo era formado por vizinhos que tinham ocupações e níveis educacionais similares, especialmente em áreas rurais.

O manejo pecuário mostrou-se não tecnificado. Em todas as propriedades a ordenha era manual, a criação extensiva e poucos utilizavam a inseminação artificial como forma alternativa de reprodução animal. Nenhuma destas variáveis apresentou significância estatística ($p > 0,20$), nas análises univariadas, como relevante para brucelose entre os animais ou de foco da doença nas

propriedades. Estudos semelhantes realizados no Espírito Santo por Azevedo (2006) mostraram predominância de propriedades com criação extensiva, sem uso de inseminação artificial e com ordenha manual. Entretanto, na análise de regressão logística multivariada, aquelas propriedades que utilizavam inseminação artificial tinham 7,05 vezes mais chances de apresentarem foco de brucelose, assim como as que criavam o rebanho em confinamento ou semi-confinamento apresentavam um risco 2,98 maior de terem rebanhos positivos que as propriedades que criavam o gado extensivamente. Explica-se tais observações devido ao fato de rebanhos criados extensivamente distribuírem-se no pasto, diminuindo o contato entre os animais e com secreções contaminantes, o que possibilitaria certa proteção aos animais. Também, o uso exclusivo da monta natural não consistiu fator de risco entre os animais, embora os touros também possam eliminar a *Brucella* no sêmen, as fêmeas apresentam defesas naturais na vagina (MONTEIRO et al., 2006) e a ordenha manual possivelmente está implicada com a ocorrência de brucelose não diretamente, mas por ser adotada em propriedades com pobre manejo zootécnico. Tenório (2007) percebeu associação significativa entre a ocorrência de brucelose e a ordenha manual.

No município foram observadas mais propriedades leiteiras (56,52%) e o tipo de pecuária não foi estatisticamente significativa ($p > 0,20$) nas análises univariadas como risco para brucelose entre os animais ou para foco da doença nas propriedades. Diferindo dos resultados de Azevedo (2006), Dias (2004) e Sikusawa (2004) que encontram predominância de propriedades com pecuária mista nos respectivos Estados do Espírito Santo, São Paulo, Mato Grosso e Santa Catarina. Em Mato Grosso, Negreiros (2006) observou um risco duas vezes maior das propriedades de pecuária de corte ou mista serem focos de brucelose. Enquanto as propriedades de leite, por apresentarem uma menor reposição de animais, apresentariam certa proteção frente à disseminação da brucelose.

Os animais testados eram em sua maioria fêmeas (92,80%), nenhum macho apresentou resultado positivo e esta variável não foi estatisticamente significativa ($p > 0,20$) tanto para ocorrência de brucelose entre os animais, quanto para identificação foco da enfermidade na propriedade. Resultado este

semelhante ao achado por Murakami (2003) e Campos (2003) que não encontraram nenhum macho bovino positivo em suas pesquisas.

Nota-se que a faixa etária média dos bovinos testados é alta, 64,5 meses, e apresentou significância estatística ($p < 0,20$) quanto à prevalência da brucelose nos animais, permanecendo no modelo multinível multivariado, indicando que bovinos acima desta faixa etária apresentavam aproximadamente cinco vezes e meia vezes mais chances de serem soropositivos. Murakami (2003) identificou a idade como o fator mais associado à prevalência de brucelose nos animais; Azevedo (2006) encontrou o risco cinco vezes maior da existência de animais soropositivos em rebanhos com mais de 15 fêmeas com idade superior a 24 meses; Kadohira et al. (1997), Solorio-Rivera, Segura-Correa e Sánchez-Gil (2007) observaram associação entre a idade dos animais e ocorrência de brucelose, e no Estado de Goiás foi observada uma tendência da prevalência de focos de brucelose ser mais elevada em propriedades com um maior número de fêmeas adultas (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006). A relação entre idade dos bovinos e a prevalência da enfermidade deve-se ao fato de quanto maior o tempo de vida dos animais maior a probabilidade deste entrar em contato com o agente infeccioso.

Foi encontrada associação estatisticamente significativa ($p < 0,20$) na análise univariada entre a ocorrência de brucelose nos animais e de foco nas propriedades com o tamanho do rebanho bovino. Entretanto a variável não permaneceu com significância ($p > 0,05$) nos modelos multivariados. Azevedo (2006) encontrou a relação positiva entre ocorrência de brucelose e tamanho do rebanho bovino num extrato do Estado do Espírito Santo, Coelho et al. (2007), Kabagambe et al. (2001), Muma et al. (2007), Murakami (2006), Solorio-Rivera, Segura-Correa e Sánchez-Gil (2007) também observaram a mesma associação em Portugal, Zâmbia, Pernambuco e México, respectivamente. A infecção persiste em grandes rebanhos, ou devido ao amplo número de animais suscetíveis que ainda poderiam ser infectados, ou possivelmente estariam associados com intenso movimento de animais aumentando o potencial de exposição ao agente, dificultando a erradicação da doença.

Verificou-se em média 42 fêmeas em ordenha por propriedade em São Francisco do Brejão. No Espírito Santo, Azevedo (2006) encontrou a mediana de 10 animais em lactação. Na análise univariada o número de vacas em lactação mostrou-se com significância estatística ($p < 0,20$), tanto para ocorrência de foco de brucelose em propriedades, quanto para infecção dos animais. Contudo esta variável não permaneceu com significância estatística ($p > 0,05$) nos modelos multivariados rodados. Negreiros (2006) encontrou, no extrato 01 do Estado do Mato Grosso, relação estatística de risco entre o número crescente de fêmeas em ordenha e ocorrência de focos de brucelose nas propriedades. Explica-se o valor epidemiológico do número de animais em ordenha e a relação como fator de risco para disseminação da brucelose, devido à proporção entre maior número de vacas em lactação, conseqüentemente maior número de partos e mais restos placentários sendo excretados, possibilitando maior contaminação ambiental.

Calculou-se a produção média de 182,19L de leite/dia/propriedade, em São Francisco do Brejão. Azevedo (2006) observou a mediana de 50 L de leite/dia/propriedade, no Estado do Espírito Santo e Dias (2004) de 30 L de leite/dia/propriedade, em São Paulo. Avaliando-se a correlação de risco entre a produção diária de leite, por propriedade, e a ocorrência de focos de brucelose nas propriedades ou entre os animais, a análise univariada foi estatisticamente significativa ($p < 0,20$) em ambos, mas a variável não permaneceu significativa ($p > 0,05$) nos modelos multivariados propostos. Negreiros (2006) observou uma relação significativa entre a ocorrência da brucelose na propriedade e a produção diária acima de 50L de leite nos circuitos 01 e 03 do estado do Mato Grosso e Murakami (2003) constatou maior proporção de animais reagentes nas propriedades que apresentavam uma produção diária de leite acima de 200L. Acompanhando o raciocínio epidemiológico acima, quanto maior o número de fêmeas em lactação, consecutivamente maior produção de leite por dia, mais partos e provavelmente mais contaminação ambiental.

A produção média de 4,34L de leite/dia/vaca, no município de São Francisco do Brejão, mostrou-se semelhante ao calculado por Azevedo (2006) no Espírito Santo, demonstrando que o município de São Francisco do Brejão

apresenta uma produção diária de leite por vaca semelhante a outros Estados brasileiros.

Propriedades com área superior a 355 ha apresentavam uma relação estatisticamente significativa ($p < 0,20$) entre a prevalência da brucelose nos animais e nas propriedades, quando realizada a análise univariada, mas não permaneceu com significância ($p > 0,05$) em ambos os modelos multivariados. Omer et al. (2000) encontraram uma relação positiva entre tamanho das propriedades e existência de animais soropositivos e Murakami (2003) não encontrou em sua pesquisa significância estatística nesta relação. Deve-se levar em conta a associação positiva entre o tamanho da propriedade, maior número bovinos e conseqüentemente maior número de fêmeas em ordenha o que determina uma colinearidade entre as variáveis independentes, sendo possivelmente este o motivo de exclusão desta variável do modelo multivariado.

A vacinação das bezerras contra brucelose era realizada pela maior parte dos entrevistados (57,97%), em São Francisco do Brejão, assim como em São Paulo, onde 86,9% das propriedades vacinavam as fêmeas contra brucelose (DIAS, 2004). Entretanto esta prática, mesmo sendo constatada como fator de proteção contra a brucelose, em Minas Gerais (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006), no Espírito Santo (AZEVEDO, 2006) e em São Paulo (DIAS, 2004), não apresentou significância estatística ($p > 0,20$) na análise univariada de ocorrência de foco de brucelose na propriedade ou entre os animais nesta pesquisa. Já levantamentos realizados por Poester, Gonçalves e Lage (2002) apontaram decréscimo na prevalência da brucelose no Rio Grande do Sul quando este Estado implantou o programa de vacinação e alcançou índices de vacinação de 80%. Contudo, deve-se levar em conta que a vacinação de bezerras contra brucelose, mesmo sendo obrigatória no Maranhão, de acordo com a Portaria Estadual nº 038/2008 de 03 de março de 2008 (MARANHÃO, 2008), não foi implantada no Estado, o que torna as medidas individuais de imunização pouco eficientes no controle da brucelose, frente a outras práticas zootécnicas adotadas nestas mesmas propriedades e que possibilitam a disseminação da enfermidade.

Analisando-se o período durante o qual as bezerras vinham sendo vacinadas contra brucelose, em São Francisco do Brejão, observou-se que a variável não apresentou significância estatística ($p > 0,20$) na análise univariada de ambos os modelos. De acordo com Lage, Poester e Gonçalves (2005), a resistência conferida pela vacina B19 no rebanho, embora não sendo absoluta, reduz a severidade dos sintomas clínicos, diminuindo a quantidade de organismos patogênicos que seriam eliminados no ambiente pelos animais infectados, o que provavelmente possibilitava o estabelecimento da enfermidade. Jardim et al. (2006) afirmaram que a vacina B19 (amplamente utilizada no Brasil) possui o inconveniente de interferir no diagnóstico sorológico, quando os animais são vacinados fora idade preconizada e nenhuma técnica sorológica adotada pelo MAPA apresenta especificidade adequada para distinção de anticorpos vacinais. Assim, justifica-se o fato de que em propriedades, onde a vacinação vem sendo realizada, há bastante tempo, ainda persistam animais reagentes.

Na maior parte das propriedades que realizavam a imunização das bezerras contra brucelose, os animais eram vacinados por médicos veterinários, como o preconizado na Instrução Normativa Nº 6 de 08 de janeiro de 2004 (BRASIL, 2004).

Quanto aos sinais clínicos da brucelose nos animais, somente o intervalo entre partos apresentou significância estatística ($p < 0,20$) na análise univariada como fator de influência para ocorrência de foco de brucelose no rebanho, mas não integrou o modelo multivariado ($p > 0,05$), demonstrando risco nas propriedades onde os animais tinham um intervalo entre partos maior que 12 meses. Silva et al. (2005) afirmam que a repetição de cios, a baixa fertilidade e consequente aumento do intervalo entre partos são sinais clínicos da brucelose em bovinos. A ocorrência de abortos no último ano em 49,28% das propriedades, nascimento de bezerros fracos com 36,23% de frequência e relatos de retenção placentária em vacas por 57,97% dos entrevistados, não se mostraram estatisticamente significante na análise univariada ($p > 0,20$), de ambos os modelos. Tenório (2007) não encontrou associação significativa entre a ocorrência de brucelose e a presença de abortos em bovinos, no município de Correntes-PE,

enquanto Negreiros (2006) observou, no Estado do Mato Grosso, um risco quase duas vezes maior de ocorrência de brucelose nas propriedades onde eram registrados abortos, assim como Kabagambe et al. (2001) também identificaram um risco três vezes e meia maior de presença de abortos em propriedades com caprinos soropositivos em Uganda.

O destino adequado dos restos placentários é uma das formas de diminuir a disseminação da brucelose. Lage, Poester e Gonçalves (2005) relataram que os fetos abortados e restos placentários deveriam ser incinerados ou enterrados. Entretanto 69,56% das propriedades estudadas, em São Francisco do Brejão, deixavam os restos de abortos no pasto. Esta variável foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no modelo de regressão logística multivariado gerado para identificação dos fatores de risco associados à presença de foco da enfermidade na propriedade, demonstrando que propriedades com bovinos que deixavam os restos placentários abortados no pasto tinham cinco vezes e meia mais chances de ser foco de brucelose. Em Minas Gerais, o destino inadequado da placenta e fetos abortados implicou um risco uma vez e meia maior de ocorrência de foco de brucelose nas propriedades (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006).

Foi observado que a realização de exames contra brucelose nos animais não era uma prática comum na rotina zootécnica, 73,91% dos entrevistados não faziam exames nos bovinos, e quando feitos, eram eventuais (05 propriedades) ou na ocasião da venda de animais (05 propriedades). Nenhuma destas variáveis apresentou significância estatística ($p > 0,20$) na análise univariada de risco para brucelose entre os animais, ou para foco da doença nas propriedades, assim como Tenório (2007) não encontrou relevância destas variáveis na ocorrência da brucelose na Cidade de Correntes-PE, mas Negreiros (2006), dividindo o Estado do Mato Grosso em extratos, identificou que a constante realização de exames contra brucelose nos animais era um fator de proteção para os rebanhos que integravam o extrato 02 do Estado.

Em 56,62% das propriedades estudadas, repunha-se o rebanho bovino com animais comprados no próprio município. Quando foi analisada a compra de bovinos de outra região, comparada às outras formas de aquisição de animais do

rebanho, esta variável mostrou-se estatisticamente significativa ($p < 0,20$) na análise univariada para ocorrência de foco de brucelose no rebanho e para a soropositividade do animal, sendo incluída na análise multivariada de ambos. Porém esta variável não permaneceu significativa ($p > 0,05$) nos modelos multivariados rodados. Geralmente criadores, ao identificarem um animal suspeito da enfermidade, tendem a retirá-lo do rebanho comercializando-o em outra região onde os pecuaristas desconhecem o problema que ocorreria no rebanho de origem, vendendo-o pelo preço zootécnico e não a peso de carcaça. Omer et al. (2000) encontrou um aumento do risco de soropositividade do rebanho para brucelose na adição externa de animais.

De acordo com as respostas do questionário epidemiológico, 69,57% dos entrevistados compravam bovinos com a finalidade de engorda. Na análise univariada esta variável mostrou-se estatisticamente significativa ($p < 0,20$), quanto ao risco de foco da doença nas propriedades, quando comparada à compra dos animais para recria, reprodução ou quando não havia reposição de animais no plantel. Entretanto esta variável não permaneceu estatisticamente significativa nos modelos multivariados propostos ($p > 0,05$). Na rotina zootécnica a compra de bovinos para recria ou engorda é caracterizada por animais com baixo potencial genético, de menor valor comercial, que ficam no pasto até alcançarem o peso e serem enviados para o abate. Para estas finalidades, a legislação estadual não exige o atestado de brucelose para o comércio intra-estadual de animais (ESTADO DO MARANHÃO, 2005). Além disso, estes animais acabam por reproduzirem-se, no plantel, o que muito provavelmente corrobora para o risco de ocorrência da enfermidade.

Observou-se que os proprietários entrevistados tinham preferência por adquirir fêmeas (71,74%), com faixa etária de 13 a 24 meses (34,78%). Não houve significância estatística ($p > 0,20$), na análise univariada, quando comparou-se a aquisição de bovinos por sexo ou faixa etária e a ocorrência da brucelose nas propriedades ou existência de reação sorológica positiva em animais. No Estado de São Paulo (DIAS, 2004), Paraná e Minas Gerais

(UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006) a compra de reprodutores foi identificada como fator de risco para brucelose bovina.

Em poucas propriedades (10,87%) era exigido o exame de brucelose do animal na aquisição do mesmo. Entretanto esta prática apresentou-se estatisticamente significativa ($p < 0,20$) na análise univariada de risco de foco da doença nas propriedades e de soropositividade dos animais, não permanecendo como um fator relevante nos modelos multivariados propostos ($p > 0,05$). Lage, Poester e Gonçalves (2005) afirmaram que a maioria dos animais infectados é assintomática e não apresenta sorologia positiva até próximo ao aparecimento dos sinais clínicos, o que justificaria ter-se encontrado esta variável como fator de risco na análise univariada.

Apesar de somente 17,39% das propriedades estudadas alugarem seus pastos a outros criadores, esta variável mostrou-se estatisticamente significativa ($p < 0,20$) na análise univariada da ocorrência da brucelose entre os bovinos, permanecendo significativa ($p < 0,05$) na análise multivariada do modelo multinível representando um risco nove vezes e meia maior dos animais serem positivos em propriedades que alugavam seus pastos a outros rebanhos. Poucos entrevistados necessitavam alugar pasto de outras propriedades para seus rebanhos (52,17%). Logo esta variável não se mostrou estatisticamente significativa ($p > 0,20$) na análise univariada de risco para brucelose entre os animais, ou para ocorrência de foco da doença nas propriedades. Tais resultados demonstram que o contato entre animais submetidos a manejos pecuários diferentes e conseqüentemente expostos a riscos epidemiológicos diversos, representa risco de infecção aos animais. Kabagambe et al. (2001) identificaram que práticas de manejo envolvendo o movimento de animais entre rebanhos estavam associadas com o risco de brucelose em caprinos, Azevedo (2006) constatou um risco quase três vezes maior de ocorrência de brucelose em propriedades que alugavam pasto no Estado do Espírito Santo e, no Paraná, este risco era de aproximadamente duas vezes maior em fazendas que alugavam pasto (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006).

Vários entrevistados (84,06%) relataram a existência de piquete maternidade na propriedade, ao contrário do achado por Azevedo (2006) no Espírito Santo, onde 56,4% das propriedades não utilizavam o piquete maternidade. Mas a variável não foi significativa estatisticamente ($p > 0,20$) na análise univariada de risco para ocorrência de foco da doença nas propriedades, ou para presença de soropositividade nos animais. Semelhante ao encontrado em São Francisco do Brejão foi o resultado da pesquisa de Murakami (2003), onde o piquete maternidade não apresentou influência com a prevalência da brucelose. Estes achados podem ser explicados pelo fato de imaginar-se um efeito protetor do piquete maternidade em isolar as fêmeas na ocasião do parto e evitar a contaminação do pasto com restos placentários. Entretanto deve-se considerar que no piquete maternidade são colocados juntos animais infectados e não infectados e que esta proximidade possibilitaria não só o risco de disseminação da enfermidade, como uma possibilidade de contaminação maior do que numa área ampla.

As propriedades estudadas carecem de assistência técnica, 36,23% não recebiam acompanhamento no manejo do gado, diferentemente de Santa Catarina, onde 52,33% das propriedades recebem assistência veterinária (SIKUSAWA, 2004). A análise univariada não foi significativa ($p > 0,20$), comparando-se à assistência técnica com risco de foco da brucelose nas propriedades ou presença de animais positivos, talvez pelo fato do médico veterinário ser requisitado eventualmente, somente para solução de problemas sanitários e não para dar orientação continuada sobre o manejo dos animais. Murakami (2003) não encontrou associação entre a assistência veterinária e a ocorrência de brucelose no rebanho bovino.

Em 55,07% das propriedades estudadas, não foi relatada a existência de pequenas coleções de água às quais os bovinos tivessem acesso, o que ocorre em Santa Catarina (SIKUSAWA, 2003). Na análise univariada do modelo multinível foi encontrada ($p < 0,20$) significância estatística entre a ocorrência da brucelose nos bovinos e dessedentação destes em pequenas coleções de água nas propriedades. Contudo no modelo multivariado proposto esta variável não

apresentou relevância estatística ($p > 0,05$). Entretanto demonstrando a possibilidade de contaminação destas fontes por secreções contaminadas e possível risco de disseminação da brucelose. Negreiros (2006) encontrou associação, na análise univariada, entre a presença de áreas alagadiças e ocorrência de brucelose em propriedades do Estado do Mato Grosso e Coelho et al. (2007) observaram um risco três vezes e meia maior de foco de brucelose em rebanhos caprinos em que não se dispunha de água limpa para os animais.

A existência de pastos em comum com outras propriedades seria, possivelmente, um fator de disseminação da brucelose, por permitir o contato entre animais, sob manejos diferentes. Entretanto em São Francisco do Brejão, esta situação, apesar de menos observada (27,54% dos casos), foi identificada com o fator de proteção, na análise multivariada ($p < 0,05$), para foco da brucelose nas propriedades, talvez pelo fato das propriedades serem vizinhas e, possivelmente, apresentarem manejo zootécnico e sanitário semelhante. Esta variável não apresentou risco como relatado na literatura. Dias (2004) encontrou em 9,8% das propriedades estudadas, no Estado de São Paulo, a existência de pastos comuns com outras fazendas, Azevedo (2006) observou a mesma situação em 28,7% das propriedades, no Espírito Santo. Entretanto, em ambos os modelos rodados, esta variável não foi estatisticamente significativa.

O número de movimentações registradas em Guias de Trânsito Animal (GTA) apresentou uma relação estatisticamente significativa ($p < 0,20$) na análise univariada, tanto entre a ocorrência de foco de brucelose nas propriedades, como na infecção dos animais, mas, quando o modelo múltiplo foi rodado, esta variável só permaneceu com risco para foco de brucelose ($p < 0,05$), mostrando que, em propriedades onde havia mais de treze emissões de GTA, no período de janeiro de 2007 a agosto de 2008, tinham-se nove vezes e meia mais chances de pelo menos um dos animais do rebanho ser soropositivo. Pode-se explicar tal situação pelo fato das propriedades que faziam intensa movimentação comercial dos bovinos do plantel não terem o hábito de exigir exames contra brucelose na comercialização (como observado na variável anteriormente analisada) facilitando a introdução de animais infectados nas propriedades, até mesmo como explicado

por Monteiro et al. (2006) que encontraram predominância de animais positivos para brucelose em rebanhos de corte justificada pelo ingresso indiscriminado de animais em virtude da própria dinâmica da exploração e Refai (2002) afirma que a principal causa de ineficiência das campanhas de controle e erradicação da brucelose está na carência de controle da movimentação animal.

Todas as propriedades amostradas criavam pelo menos outra espécie animal, além dos bovinos. A presença de animais das espécies ovina e o tamanho do rebanho suíno demonstraram significância estatística ($p < 0,20$) com a ocorrência da brucelose nas propriedades, na análise univariada. Quanto à existência de bovinos com reação positiva, a presença de caprinos, de bubalinos ou de suínos foram estatisticamente significantes ($p < 0,20$) na análise univariada do modelo multinível. Não foi apresentada qualquer relação entre a brucelose e demais espécies animais nos modelos multivariados propostos. Azevedo (2006) também observou, na análise univariada, que a presença de pequenos ruminantes era fator de proteção da brucelose no rebanho bovino, no Espírito Santo.

A maioria das propriedades estudadas não relatou a presença de animais silvestres na área da propriedade (62,32%). Esta variável apresentou significância estatística ($p < 0,20$) na análise univariada de risco para brucelose entre os animais, quando era observada a presença de cervídeos e outros animais silvestres. Contudo esta variável não permaneceu estatisticamente significativa no modelo multivariado ($p > 0,05$). Muma et al. (2007) constataram relação positiva entre a existência de focos de brucelose no rebanho e o contato dos bovinos com animais silvestres.

Durante a execução da pesquisa foram identificadas várias práticas que poderiam expor o ser humano ao risco de contrair brucelose, tanto no exercício profissional, quanto no consumo de alimentos de origem animal. De acordo com Ruiz-Mesa et al. (2005), a maior incidência da brucelose humana foi encontrada em países em desenvolvimento e em comunidades rurais.

Foi constatado que as propriedades de São Francisco do Brejão apresentam animais soropositivos e que a produção leiteira era destinada, em sua

maioria, aos laticínios da região. Contatou-se, ainda, que pouca quantidade do leite produzido na fazenda era destinada ao consumo dos próprios trabalhadores (média 2,75L de leite/dia) e que, na maioria das propriedades (82,61%), o leite era fervido antes do consumo humano. Azevedo (2006) também encontrou pouco consumo de leite cru nas propriedades do Espírito Santo, Sikusawa (2004) observou que, em Santa Catarina, a maior parte do leite produzido é entregue aos laticínios, Miyashiro et al. (2007) através de PCR conseguiram identificar 37 amostras de queijo com *B. abortus*, das quais 07 eram de campo, Botelho et al. (2000) conseguiram infectar cobaias, pela via intraperitoneal, através do leite bovino comercializado em Pernambuco e Sofian et al. (2007) identificaram como fator de risco para a brucelose humana o consumo de produtos de origem animal não pasteurizados.

Um aspecto preocupante quanto ao risco zoonótico que a brucelose representa deve-se à afirmação dos pecuaristas que, ao identificarem um animal com sinais sugestivos de brucelose no rebanho, mandavam-no para abate no matadouro local. Lacerda et al. (2000) identificaram uma prevalência de 11,86% dos trabalhadores de frigoríficos em São Luís - MA com reação sorológica positiva para brucelose, Coelho, Martins e Evangelista (1995) encontraram uma prevalência de 2,17% de humanos reagentes para brucelose em matadouros de São Luís - MA, Sá (2006) constatou que 6,81%, dos animais testados, num abatedouro de São Luís - MA, eram soro-reagentes para brucelose, enquanto Moura (2008) não encontrou humanos reagentes à brucelose em abatedouro do município de São Domingos - MA.

Nas propriedades estudadas, em média, 02 pessoas manejam diretamente o gado ocorrendo, inclusive, o manuseio dos restos de aborto e realização de partos de vacas sem uso de luvas, durante o exercício profissional. Conforme a pesquisa, os profissionais não apresentavam grande esclarecimento sobre a brucelose, desconhecendo a forma de transmissão da doença para homem e para os animais, embora tivessem conhecimento sobre os sinais clínicos nos animais e ainda soubessem tratar-se de uma zoonose. Massis et al. (2005) demonstraram uma significância positiva entre a incidência de casos em

humanos e o número de rebanhos infectados.

6 CONCLUSÕES

A prevalência da brucelose nos animais e entre rebanhos do município de São Francisco do Brejão não diferem da situação nacional.

A pecuária do município de São Francisco do Brejão caracterizou-se como pouco tecnificada, sem grandes investimentos por parte dos criadores, servindo como principal ocupação destes, entretanto sem render grandes lucros aos mesmos.

Em São Francisco do Brejão, os fatores que influenciam na ocorrência da brucelose nos animais e na origem dos focos da enfermidade estão mais diretamente ligados ao manejo pecuário que aos fatores biológicos da enfermidade.

Bovinos com idade acima de 64 meses e em propriedades onde a introdução de outros bovinos no rebanho se dava, principalmente, para engorda apresentavam maiores riscos de serem soropositivos para a brucelose bovina.

Propriedades com número elevado de movimentação de bovinos, registrada na AGED e que, no manejo do rebanho, os restos de abortos eram deixados no pasto apresentaram maiores risco de serem foco de brucelose. Enquanto que, em propriedades onde existiam pastos em comum com outras fazendas, encontrou-se menos chances de ser foco da enfermidade.

A vacinação das fêmeas não está sendo eficiente no controle da enfermidade animal no município.

REFERÊNCIAS

ACKERMANN, M. R; CHEVILLE, N. F.; DEYOE, B. L. Bovine ileal dome lymphoepithelial cell: endocytosis and transport of *Brucella abortus* strain 19. **Vet. Pathol.**, v. 25, p. 28-35, 1988.

AL-ANI, F.K. et al. 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.

ASSIS, J.M. **Modelos multiníveis em pesquisas amostrais complexas – uma aplicação à valorização de aluguéis de imóveis residenciais segundo suas características/atributos**. 2005. 114f. Dissertação (Mestrado em Estudos Populacionais e Pesquisas Sociais) - Escola Nacional de Ciências estatísticas, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro. 2005.

AZEVEDO, S.S. de. **Caracterização epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Espírito Santo**. 2006. 103 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo. 2006.

BOTELHO, A. P. et al. Recuperação de *Brucella abortus* do leite *in natura* procedente de vacas soropositivas dos municípios de Pedra e Venturosa – PE. Aspectos de Saúde Pública. **Rev. Hig. Alim.**, v.14; n.73, p.72-77. 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT). **Inquérito Soroepidemiológico da Brucelose: Manual de Procedimentos**. Brasília: MAPA/SDA/DDA, 2001. 24 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT). **Manual Técnico**. Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2006a. 184 p.

BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 06, de 8 de janeiro de 2004. **Aprova o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 01 nov 2007.

BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 41 de 24 de novembro de 2006b. **Aprova os Critérios Específicos para o Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios de Diagnósticos da Brucelose Bovina e Bubalina**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 01 nov 2007.

CABALLERO, A. et al. TNFA promoter polymorphism and susceptibility to brucellosis. **Clin. Exp. Immunol.**, v 121, n 3, p 480-483, 2000. Disponível em: <http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1046/j.1365-2249.2000.01331.x>
Acesso em: 04 set 2007.

CAMARGO, S.C.A. **Aglutininas anti-*Brucella sp* em hemo-soros humanos em um matadouro sob serviço de inspeção municipal em São Luís - MA.** 2005, 35f. Graduação em Medicina Veterinária (monografia) Universidade Estadual do Maranhão. 2005.

CAMPBELL, G. A.; ADAMS, L. G.; SOWA, B. A. Mechanism of binding of *Brucella abortus* to mononuclear phagocytes from cows naturally resistant or susceptible to brucellosis. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 41, p. 295-306, 1994.

CAMPOS, A.C.P.de. et al. Brucelose bovina: prevalência de anticorpos anti-*brucella abortus* em reprodutores bovinos na microrregião de Goiânia. **Ciênc. Anim. Bras.**, v.4, n.2, p. 125 -129, 2003. Disponível em: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/307/275>. Acesso em: 10 jul 2007.

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

CARVALHO NETA, A. V.; NASCIMENTO, E. F. do; SANTOS, R. de L. Brucelose suína. **Cad. Téc. Vet. Zootéc.**, n.47, p.57-65, 2005.

CHANTALA, K., BLANCHETTE, D., SUCHINDRAN, C. M., Software to compute sampling weights for multilevel analysis. **Carolina Population Center, UNC at Chapel Hill.** 9p. 2006.

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.

COELHO, A.M. et al. A case-control study of risk factors for brucellosis seropositivity in Portuguese small ruminants herds, **Prev. Vet. Med.** (2007), doi: 10.1016/j.prevetmed.2007.06.001. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=616451812&_sort=d&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=8817ef8cc356ca62af3ecbce5bc66e7b. Acesso em: 04 set 2007.

COELHO, L.M.; MARTINS, L.; EVANGELISTA, F.H. prevalência da brucelose nos trabalhadores de matadouro em São Luís-MA. **R. bras. Med. Vet.**, v.17, n. 2, 1995.

CUTLER, S.J.; CUTLER, R.R. Brucellosis: the most common bacterial zoonosis?. **BMSA**, abril, p 336-341, 2006. Disponível em:

http://www.ibms.org/pdf/bs_articles_2006/brucellosis_apr06.pdf. Acesso em: 10 jul 2007.

CUTLER, S.J.; WHATMORE, A.M.; COMMANDER, N.J. Brucellosis – new aspect of an old disease. **J. Applied Microbiol.**, v. 98, p. 1270-1281, 2005.

DARWESH, M.A.; BENKIRANE, A. Field investigations of brucellosis in cattle and small ruminants in Syria, 1990-1996. **Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.**, v.20, n.3, p.769-775, 2001.

DIAS, R.A. **Caracterização Espacial da Brucelose Bovina no Estado de São Paulo**. 2004. 112f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

DOGANAY, M.; AYGEN, B. Human brucellosis: an overview. **Int. J. Infec. Dis.**, v.7, n.3, p.173-182, 2003.

DOGANAY, M.; AYGEN, B.; ESEL, D. Brucellosis due to blood transfusion. Turkey: Faculty of Medicine, Erciyes University/**Department of Infectious Diseases and Microbiology**, [2000].

ESTADO DO MARANHÃO. SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E DESENVOLVIMENTO RURAL. AGÊNCIA ESTADUAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO MARANHÃO. **MEMO CIRCULAR Nº 011/05-GAB/AGED-MA**. 06 de junho de 2005. Exigências zoossanitárias para emissão da Guia de Trânsito Animal-GTA. São Luís – MA. 2005.

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.

FREITAS, J. de A. et al. Zoonotic brucellosis risk associated with clandestine slaughtered porks. **Rev. Saúde Pública**, v.35, n. 1, p. 101-102, 2001.

GODFROID, J. Brucellosis in wildlife. **Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.**, v.21, n.2, p.277-286, 2002.

GORVEL, J. P.; MORENO, E. *Brucella* intracellular life: from invasion to intracellular replication. **Vet. Microbiol.**, v. 90, p. 281-297, 2002.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – **IBGE**. Disponível em: www.ibge.gov.br. acessado em: 03 fev 2008.

JARDIM, G. C. et al. Diagnóstico da brucelose bovina em animais adultos vacinados com dose reduzida da cepa 19 de *Brucella abortus*. **Pesq. Vet. Bras.** v.26, n.3, p. 177-182, jul/set, 2006.

KABAGAMBE, E.K. et al. Risk factors for *Brucella* seropositivity in goat herds in eastern and western Uganda. **Prev. Vet. Med.**, v. 52, n. 2, p. 91-108, 2001. disponível em: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TBK447MVF11&_user=686379&_coverDate=12%2F03%2F2001&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&view=c&_acct=C000037538&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686379&md5=30db8de9542c2c36f21684e6f0464f20. Acesso em: 20 set 2007.

KADOHIRA, M. et al. Variations in the prevalence of antibody to brucella infection in cattle by farm, area and district in Kenya, **Epidemiol. Infect.**, v.118, p. 35-41, 1997.

KO, J.; SPLITTER, G.A., Molecular host-pathogen interaction in brucellosis: current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans. **Clin. Microbiol. Rev.** v.16, p. 65-78, 2003.

KOUBA, V. A method of accelerated eradication of bovine brucellosis in the Czech Republic. **Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.**, v.22, n.3, p.1003-1012, 2003.

KURODA, R.B.S. et al. Prevalência da brucelose bovina na microrregião da Serra de Botucatu – Estudo comparativo dos resultados das técnicas de soroaglutinação lenta em tubos, 2-mercaptoetanol e fixação de complemento. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.71, n.2, p.137-142, abri./jun.,2004.

LACERDA, L.M. et al. Brucelose em trabalhadores de matadouros do município de São Luís-MA,1997. **Rev. Hig. Aliment.**, v.14, n.68 - 69, p.62 - 65, 2000.

LAGE, A. P., et al. Programa nacional de controle e erradicação da brucelose e tuberculose. **Cad. Téc. Vet. Zootéc.**, n.47, p.99-110, 2005.

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

LEITE, R. de M. H. et al. A random sample survey of bovine Brucellosis in the State of Paraíba, Brazil. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 40, 2003.

LOPES, C.P. de M. **Pesquisa de bursite cervical em bovinos com brucelose diagnosticada em matadouro sob inspeção municipal – Frigorífico J.B.** 2003, 42p. Graduação em Medicina Veterinária (monografia) Universidade Estadual do Maranhão. 2003.

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. et al. *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. **Epidemiol. Infect.**, n.136, p. 496-503, 2007.

MARANHÃO. AGÊNCIA ESTADUAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DO MARANHÃO. COORDENADORIA DE DEFESA ANIMAL. PROGRAMA DE PREVENÇÃO E ERRADICAÇÃO DA FEBRE AFTOSA. Estratificação do rebanho do município de São Francisco do Brejão. nov. 2007. (Relatório final de vacinação dos bovinos contra febre aftosa no município de São Francisco do Brejão)

MARANHÃO. SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DESENVOLVIMENTO RURAL. AGÊNCIA ESTADUAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO MARANHÃO. 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.

MASSIS, F. de, et al. Correlation between animal and human brucellosis in Italy during the period 1997–2002. **Clinic. Microbiol. Infec.** v.11, Issue 8, p.632-636, Aug 2005. doi: 10.1111/j.1469-0691.2005.01204.x. Disponível em: <http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1469-0691.2005.01204.x>. Acessado em: 04 set 2007.

MATOS, S.H.C. **Pesquisa de Brucelose em leite “In Natura” Comercializados Informalmente na cidade de São Luís/MA.** 2004. 43f. Graduação em Medicina Veterinária (Monografia)-Universidade Estadual do Maranhão. 2004.

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

MIYASHIRO, S. et al. Detection of brucella abortus DNA in illegal cheese from São Paulo and Minas Gerais and differentiation of b19 vaccinal strain by means of the polymerase chain reaction (PCR). **Braz. J. Microbio.**, v.38, p.17-22, 2007.

MONTEIRO, L.A.R.C. et al. Investigação epidemiológica da brucelose bovina em um estrato do Estado de Mato Grosso do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 26, n. 4, p. 217-222, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v26n4/a06v26n4/a06v26n4.pdf>. Acesso em 10 jul 2007.

MOURA, P.B.L. **Investigação soro-epidemiológica da brucelose no município de São Domingos do Maranhão.** 2008, 20f. Graduação em Medicina Veterinária (monografia) Universidade Estadual do Maranhão. 2008.

MUMA, J.B., et al. Risk factors for brucellosis in indigenous cattle reared in livestock–wildlife interface areas of Zambia. **Prev. Vet. Med.**, v. 80, n. 4, p. 306-

317, 2007. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=616451066&_sort=d&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=fe4a2528b947d46b52e0037eedb35799. Acesso em: 04 set 2007.

MURAKAMI, T.O. **Epidemiologia da brucelose bovina nos municípios de Altinópolis e Santo Antônio da Alegria, Estado de São Paulo. Prevalência, fatores de risco e métodos de diagnóstico.** 2003. 98f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal. 2003.

NASCIMENTO, C. **Brucelose em búfalos: Detecção de anticorpos anti *Brucella sp.* Em dois municípios do Estado do Maranhão.** 2000. 33f. Graduação em Medicina Veterinária (Monografia)-Universidade Estadual do Maranhão. 2000.

NEGREIROS, R.L. **Caracterização da brucelose bovina no Estado de Mato Grosso.** 2006. 104f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo. 2006.

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

OLIVEIRA, et al. Preditores do retardo de crescimento linear em pré-escolares: uma abordagem multinível. **Cad. Saúde Pública**, v. 23, n. 3, p. 601-613, 2007.

OMER, M.K. et al. Risk factors for *Brucella* spp. infection in dairy cattle farms in Asmara, State of Eritrea. **Prev. Med. Vet.**, v.46, p 257-265, 2000. disponível em: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=621974144&_sort=d&view=c&_acct=C000037538&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686379&md5=ca19cebf4a9226880c56f809b4fc7f26. Acesso em: 10 jul 2007

PAPA, G.; PAPADIMITRIOU, P. Challenges in *Brucella* bacteremia. **Int. J. Antimicrob. Agents.**, In Press, Corrected Proof, Available online 13 August 2007. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=616451642&_sort=d&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=54d3e30ad10cfa7f7ca0783cbe863435. Acesso em: 04 set 2007.

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

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

PIZARRO-CERDA, J.; MORENO, E.; GORVEL, J. P. Invasion and intracellular trafficking of *Brucella abortus* in nonphagocytic cells. **Review. Microbes Infect.**, v. 2, n. 7, p. 829-835, 2000.

PIZARRO-CERDÁ, J. et al. Virulent *Brucella abortus* prevents lysosome fusion and is distributed within autophagosome-like compartments. **Infect. Immun.**, v. 66, p. 2387-2392, 1998a.

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

POESTER, F.P.; GONÇALVES, V.S.P.; LAGE, A.P., Brucellosis in Brazil. **Vet. Microbiol.**, v. 90, p. 55-62, 2002. Disponível em: <http://cniat.inta.gov.ar/zoonosis/pdf%20Publ.y%20otr/Brucellosis%20in%20Brazil.pdf>. Acesso em: 10 jul 2007.

RABE-HESKETH, S., SKRONDAL, A. Multilevel modelling of complex survey data. **J. R. Statist. Soc. A.**, n.169, p. 805-827, 2006.

RABE-HESKETH, S., SKRONDAL, A., PICKLES, A. GLLAMM manual. **Technical Report 160**. Division of Biostatistics, University of California, Berkeley. 140p, 2004.

RAJASHEKARA, G. et al. *Brucella*: functional genomics and host-pathogen interactions. **Anim. Health Reseach Rev.**, v.1/2, n.7, p. 1-11, 2006.

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

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

RIBEIRO, M.G. et al. Aglutininas anti-*Brucella abortus* no soro e em secreção de bursite cervical em eqüinos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 55, n. 1, p. 57-62. 2003a.

RIBEIRO, V. F. **Controle e erradicação da brucelose bovina**. 2000. 29p. Monografia (Especialização em Sanidade Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages, 2000.

ROTH, F. et al. Human health benefits from livestock vaccination for brucellosis: case study. **Bul. World Health Org.** v.81, p.867-876, 2003.

RUIZ-MESA, .D. et al. Rose Bengal test: diagnostic yield and use for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas. **Clin. Microbiol. Infect.**, v.11, n. 3, p. 221-225, Mar 2005. doi: 10.1111/j.1469-0691.2004.01063.x. Disponível em: <http://www.blackwellsynergy.com/action/doSearch>. Acesso em: 04 set 2007.

SÁ, A.P.S. de. **Pesquisa de *Brucella* sp. em soro sanguíneo, secreções de bursite e linfonodos de bovinos abatidos em um matadouro de São Luís – MA.** 2006. 35f. Monografia (Curso de Medicina Veterinária) - Universidade Estadual do Maranhão. São Luís, 2006.

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

SCHEIN, F. B. **Prevalência de brucelose no rebanho bovino leiteiro e na família rural do município de Araputanga – MT.** 2006. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2006.

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.

SILVA, F. L. et al. Brucelose bovina. **Cad. Téc. Vet. Zootéc.**, n.47, p.1-12, 2005.

SILVA, C.M.S. da. **Brucelose em rebanho bovino no município de Riachão - MA.** 2000, 17p. Especialização em Inspeção Sanitária e Industrial dos alimentos de origem animal (monografia) Universidade Estadual do Maranhão. 2005.

SOFIAN, M., et al. Risk factors for human brucellosis in Iran: a case–control study. **Intern. J. Infec. Diseases**, In Press, Corrected Proof, Available online 14 August 2007.

SOLORIO-RIVERA, J.L., SEGURA-CORREA, J.C., SÁNCHEZ-GIL, L.G. Seroprevalence of and risk factors for brucellosis of goats in herds of Michoacan, Mexico. **Prev. Vet. Med.**, In Press, Corrected Proof, Available online 2 July 2007.

TENÓRIO, T.G.S. **Aspectos zoonóticos da brucelose bovina no município de Correntes, Estado de Pernambuco.** 2007, 123f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2007. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2004.

TOMA, B. et al. Epidemiologia aplicada à luta colectiva contra as principais doenças animais transmissíveis. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 2004. 676p.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal. **Primeiro relatório parcial: Situação epidemiológica da brucelose bovina e bubalina no Brasil.** São Paulo: USP/FMVZ/VPS, 2006. 83p.

USABIAGA, J. Panel: zoonoses of importance for economic and for public health: brucellosis and bovine tuberculosis: control or elimination. Washington, D.C.; **Org. Panam. De la Salud**; 2001. 18p. (RIMSA12/15 Es).

YUMUK, Z. et al. Relevance of autoantibody detection to the rapid diagnosis of brucellosis. **Diag. Microbiol. Infec. Disease**, v. 58, n. 3, p. 271-273, July 2007. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=616452256&_sort=d&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=1e4abddb37f9989fbb8dea323fbfe74. Acesso em: 04 set 2007.

APÉNDICES

APÊNDICE C – Comandos do STATA 9.0 do modelo de regressão logística

* a) Análise de regressão logística univariada

```
xi: logistic ME i.rebovino
logistic ME areaprop
xi: logistic ME i.densidade
logistic ME densidmed
logistic ME PEC
xi: logistic ME i.animord
logistic ME animordmed
logistic ME intervpartmed
logistic ME REPROD
logistic ME VACBRU
xi: logistic ME i.INIC if INIC!=99
xi: logistic ME i.inicvac
xi: logistic ME i.IDVAC if IDVAC !=99
xi: logistic ME i.VAC if VAC !=99
logistic ME rebovi if rebovi !=99
logistic ME presovi
logistic ME prescap
tab ME REBBUB
logistic ME suiclas
.
.
.
```

* b) Modelo logístico multivariado
* Método Stepwise

```
xi: sw logistic ME i.rebovino areaprop animordmed intervpartmed prodleitemed presovi
suiclas deixpast compraregiaio i.fanlid PASTCOM i.ATESCOMP gtacategorica, pr (.05)
```

APÊNDICE D - Comandos do STATA 9.0 do modelo multinível

* Modelo multinível

* a) Análise univariada

```
gen p=69/441
gen prob=0
replace prob=10/REB*p if REB<100 & REB>10
replace prob=15/REB*p if REB>=100
replace prob=1*p if REB<=10
```

```
gen peso=0
replace peso=1/prob
gen pwt2 = peso
gen pwt1 = 1/p
```

* exemplo: comparando variável resposta com a variável independente idade mediana do rebanho

* Ajustando o modelo sem os pesos

```
gllamm ME idade2, i(FAZ) l(logit) f(binom) nip(12) adapt
```

* Ajustando o modelo com os pesos

```
matrix a=e(b)
```

```
gllamm ME idade2, i(FAZ) pweight(pwt) l(logit) f(binom) from(a) copy nip(12) adapt eform
```

b) Modelo multivariado

*MODELO MULTIVARIADO I - todas as variáveis com significância estatística

* Ajustando o modelo sem os pesos

```
xi: gllamm ME idade2 prodleitemed prescap pressui areaprop i.SILV presbub i.rebovino
gtacategorica i.ATESCOMP ALUG1 animordmed ALAG compraregiaio engorda, i(FAZ) l(logit)
f(binom) nip(12) adapt eform
```

* Ajustando o modelo com os pesos

```
matrix a=e(b)
```

```
xi: gllamm ME idade2 prodleitemed prescap pressui areaprop i.SILV presbub i.rebovino
gtacategorica i.ATESCOMP ALUG1 animordmed ALAG compraregiaio engorda, i(FAZ) pweight(pwt)
l(logit) f(binom) nip(12) adapt eform
```

*MODELO FINAL

* Ajustando o modelo sem os pesos

```
xi: gllamm ME idade2 gtacategorica ALUG1 animordmed ALAG engorda, i(FAZ) l(logit) f(binom)
nip(12) adapt eform
```

* Ajustando o modelo com os pesos

```
matrix a=e(b)
```

```
xi: gllamm ME idade2 gtacategorica ALUG1 animordmed ALAG engorda, i(FAZ) pweight(pwt)
l(logit) f(binom) nip(12) adapt eform
```

ANEXO

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)