

PREVALÊNCIA DE BRUCELOSE BOVINA ENTRE REBANHOS FORNECEDORES DE LEITE DE UM LATICÍNIO EM ITIRAPUÃ, ESTADO DE SÃO PAULO

PREVALENCE OF BOVINE BRUCELLOSIS AMONG MILK SUPPLIERS OF A DAIRY INDUSTRY IN ITIRAPUÃ, SÃO PAULO, BRAZIL

M. A. B. MEDEIROS^{1*}, I. A. NASCIF JUNIOR², L. A. MATHIAS³

RESUMO

O estudo teve por objetivo determinar a prevalência da brucelose bovina entre fornecedores de leite de um laticínio situado no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo, e analisar fatores de risco eventualmente associados à ocorrência de brucelose nos rebanhos estudados. De uma população de 942 bovinos adultos distribuídos em 55 rebanhos, situados nos municípios de Itirapuã e de Patrocínio Paulista, foi obtida uma amostra voluntária composta por 813 animais, distribuídos em 37 rebanhos cujos proprietários aceitaram participar do estudo. Foi aplicado um questionário, para a obtenção de informações sobre fatores que pudessem estar associados às taxas de prevalência. Foram colhidas amostras de soro sanguíneo de todos os animais, as quais foram submetidas ao teste do antígeno acidificado tamponado (AAT), e as amostras positivas nesse teste foram submetidas à reação de fixação de complemento (RFC). Das 813 amostras de soro sanguíneo colhidas, 26 (3,2%) resultaram positivas na aplicação em série dos testes de triagem (AAT) e confirmatório (RFC), e das 37 propriedades estudadas, 12 (32,4%) apresentaram pelo menos um animal positivo. Os fatores que se mostraram associados à ocorrência de brucelose foram número de animais no rebanho, não utilização da vacina B19 e compra frequente de animais.

PALAVRAS-CHAVE: Brucelose bovina, antígeno acidificado tamponado, fixação de complemento.

SUMMARY

The aim of this study was to verify the prevalence of bovine brucellosis among milk suppliers of a dairy industry located in Itirapuã, São Paulo, Brazil, and to analyze the risk factors eventually associated with the occurrence of brucellosis among the herds involved in the study. A voluntary sample of 813 animals from 37 herds whose owners agreed to participate in the study was obtained among a population of 942 adult cattle from 55 herds located in the municipalities of Itirapuã and Patrocínio Paulista. A questionnaire about risk factors that could be associated with the prevalence rates was applied. Serum samples from all 813 animals were collected and tested by the rose Bengal plate test (RBPT); positive samples were then tested by the complement fixation test (CFT). Of the 813 serum samples, 26 (3.2%) tested positive in the serial application of RBPT and CFT, and of the 37 herds, 12 (32.4%) had at least one positive animal. Factors that showed association with the prevalence rate were number of animals in the herd, lack of vaccination with strain B19 and frequent introduction of animals.

KEY-WORDS: Bovine brucellosis, rose Bengal plate test, complement fixation.

¹ Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Mestrado), FCAV-Unesp, Jaboticabal, SP * Autor para correspondência: maalmeidabraga@hotmail.com

² Universidade de Franca

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, FCAV-Unesp, Jaboticabal, SP

INTRODUÇÃO

A brucelose é uma enfermidade de grande importância econômica, pelo prejuízo que pode causar à criação de diversas espécies animais, além do fato de seu agente etiológico ser patogênico para humanos, causando enfermidade que pode ser grave e de difícil tratamento.

Apesar de, há muito tempo, existirem conhecimentos e recursos técnicos para erradicar a brucelose animal, como já fizeram muitos países desenvolvidos, essa enfermidade ainda é endêmica na maior parte do Brasil (POESTER et al., 2002), causando prejuízos econômicos e expondo ao risco as pessoas que têm contato com animais infectados ou seus produtos.

Diante dessa situação, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) aprovou, em janeiro de 2001, o Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), voltado para bovinos e bubalinos, com o propósito de diminuir a prevalência da infecção e aumentar a oferta de produtos de baixo risco para a saúde pública (BRASIL, 2001; 2004).

Na sequência da criação do PNCEBT, a legislação que regulamenta a produção leiteira no Brasil estabeleceu que todos os rebanhos produtores de leite tipo A e os produtores de tipo B devem ser certificados livres de brucelose (BRASIL, 2002).

Antes da criação do PNCEBT, havia sido realizado apenas um levantamento de abrangência nacional para conhecer a prevalência da brucelose bovina (BRASIL, 1977). Com a criação do programa, foram realizados estudos de prevalência em diversos estados, como São Paulo (DIAS et al., 2009) e Minas Gerais (GONÇALVES et al., 2009). Diversos outros estudos podem ser encontrados na literatura, mas de abrangência apenas local. Nas proximidades dos municípios envolvidos neste estudo, foi feito um levantamento, por Murakami et al. (2003), envolvendo os municípios de Altinópolis e Santo Antônio da Alegria.

Estudos mostram que os fatores mais comumente encontrados associados à prevalência de brucelose bovina são sexo (NICOLETTI, 1980; ACHA & SZYFRES, 2001), número de animais no rebanho (KELLAR et al., 1976; NICOLETTI, 1980; SALMAN & MEYER, 1984; DIAS et al., 2009), ausência de vacinação (KELLAR et al., 1976; GONÇALVES et al., 2009) e introdução de animais no rebanho sem os devidos cuidados sanitários (VAN WAVEREN, 1960; NICOLETTI, 1980; KELLAR et al., 1976; DIAS et al., 2009; GONÇALVES et al., 2009).

A preocupação com a saúde animal e com a saúde pública motiva o acompanhamento da situação epidemiológica da brucelose animal, mormente em rebanhos produtores de leite, que pode ser um importante meio de transmissão para o ser humano. Sendo os animais os reservatórios do agente etiológico, a ocorrência da enfermidade humana depende da ocorrência nos animais. Daí a preocupação em realizar este estudo, que envolve fornecedores de leite de um laticínio situado em uma importante bacia leiteira do Estado de São Paulo, tendo por objetivo determinar a prevalência da brucelose bovina entre fornecedores de leite de um laticínio situado no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo e analisar fatores de risco eventualmente associados à ocorrência de brucelose nos rebanhos estudados.

MATERIAL E MÉTODOS

Rebanhos analisados

Esta investigação envolveu rebanhos bovinos fornecedores de leite de um laticínio situado no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo. Esse laticínio recebia leite de rebanhos dos municípios de Itirapuã e de Patrocínio Paulista, localizados na região Nordeste do Estado de São Paulo. O Município de Itirapuã localiza-se a 20° 38' 27'' de latitude sul e 47° 13' 09'' de longitude oeste, com uma altitude de 865 metros e uma área de 161,9 Km², e Patrocínio Paulista localiza-se a 20° 38' 22'' de latitude sul e 47° 16' 54'' de longitude oeste, com uma altitude de 743 metros e uma área de 601,7 Km² (Figura 1).



Figura 1 - Localização dos municípios de Itirapuã e Patrocínio Paulista, Estado de São Paulo, Brasil.

A população-alvo do presente estudo consistiu de todos os animais com idade igual ou superior a 24 meses dos rebanhos bovinos que forneciam leite para esse laticínio, entre os quais se buscou obter uma amostra não probabilística voluntária. O número de fornecedores do laticínio era de 55 rebanhos, que somavam 942 animais adultos. Os proprietários de 37 dos rebanhos aceitaram participar do estudo, somando então 813 animais, sendo 22 propriedades de Itirapuã e 15 propriedades de Patrocínio Paulista. Nos rebanhos que participaram do estudo, foram colhidas amostras de sangue de todos os bovinos com idade igual ou superior a 24 meses, em um total de 792 fêmeas e 21 machos. Essas colheitas ocorreram no primeiro semestre de 2007.

O sangue foi colhido, por punção na veia jugular, em frascos de vidro estéreis, sem anticoagulante. Esses frascos foram mantidos por 30 minutos em temperatura ambiente e depois refrigerados. Após a retração do coágulo, o material foi centrifugado, o soro sanguíneo foi separado, colocado em microtubos de 1,5 mL e mantido à temperatura de -20°C até o momento de realização dos testes.

Para verificar a associação de fatores de risco com a ocorrência de brucelose, foi elaborado um questionário o qual foi respondido por cada um dos fornecedores que concordaram em participar do estudo.

Testes sorológicos

O soro sanguíneo de todos os animais amostrados foi inicialmente submetido ao teste do antígeno acidificado tamponado (AAT), realizado conforme descrito no Manual Técnico do PNCEBT (BRASIL, 2006), consistindo, brevemente, em misturar, em uma placa de vidro, 30 µL de soro e 30 µL de antígeno acidificado corado com rosa de Bengala, homogeneizar, aguardar 4 minutos sob agitação e observar a ocorrência ou não de aglutinação. O antígeno usado foi preparado com *Brucella abortus* pelo Instituto Biológico de São Paulo.

Aqueles com resultado positivo no teste de triagem (AAT) foram submetidos à reação de fixação de complemento (RFC), usada como teste confirmatório, conforme prevê o PNCEBT. Para a RFC, foi usada a microtécnica 50% de hemólise, com incubação a 37°C nas duas fases da incubação, conforme descrevem Alton et al. (1988). Utilizou-se o mesmo antígeno empregado no teste de soroaglutinação lenta em tubos. A diluição do antígeno foi determinada por titulação em bloco, escolhendo-se como diluição a metade da diluição de reatividade ótima. Como complemento foi usada uma mistura de soros sanguíneos de várias cobaias. Esse complemento foi titulado como descrito por Alton et al. (1988), usando 20 vezes o volume empregado na microtécnica, para determinar o volume que continha uma unidade hemolítica 50%. Para uso no teste, o complemento era diluído de modo a conter cinco unidades hemolíticas 50%. O sistema hemolítico consistiu de suspensão de hemácias de carneiro, padronizada em espectrofotômetro para a concentração de 0,95 g de hemoglobina por 100 mL, acrescida de igual volume de uma suspensão de hemolisina, que

consiste de anticorpos de coelho contra hemácias de carneiro (ALTON et al., 1988). O título foi obtido pela recíproca da maior diluição do soro com pelo menos 25% de fixação de complemento, sendo considerado positivo o soro com pelo menos 25% de fixação de complemento na diluição 1:4 (ALTON et al., 1988). Foi considerado infectado o rebanho com pelo menos um animal com resultado positivo na reação de fixação de complemento.

Análise dos dados

A prevalência verdadeira foi estimada com base na prevalência aparente, ou seja, aquela obtida por meio do diagnóstico sorológico, empregando a seguinte fórmula (DOHOO et al., 2003):

$$PV = \frac{PA - (1 - E)}{1 - [(1 - E) + (1 - S)]}$$

onde: PV = prevalência verdadeira; PA = prevalência aparente; E = especificidade; e S = sensibilidade.

Considerou-se, para o protocolo de testes em série adotado, uma sensibilidade de 95% e uma especificidade de 99,5%, conforme adotaram Dias et al. (2009). Para verificar a associação entre os fatores analisados e a prevalência da infecção foi usada análise univariada. Para tanto, foi calculada a razão de prevalências (RP), com determinação do intervalo de confiança (IC) com 95% de probabilidade (SCHWABE et al., 1977). Também foi determinada a significância estatística, com base no teste exato de Fisher, cujos cálculos foram efetuados usando planilha eletrônica disponível no site www.physics.csbsju.edu/stats/fisher.form.html. Adotou-se como significante a probabilidade igual ou superior a 95% de que a associação observada não fosse devida ao acaso.

RESULTADOS

Dos 55 fornecedores de leite do laticínio envolvido no estudo, 37, ou seja, 67,3%, concordaram em participar, e, com isso, 813 (86,3%) dos 942 animais adultos que compunham a população bovina alvo da pesquisa foram examinados (Tabela 1).

Os testes de brucelose revelaram que, dos 813 animais examinados, 26 apresentaram reação positiva na aplicação sequencial dos testes AAT e RFC, significando uma taxa de prevalência aparente de 3,2%. (Tabela 1). Levando em consideração a sensibilidade e a especificidade do diagnóstico sorológico, a prevalência verdadeira foi estimada em 2,9% de animais infectados.

Entre os 37 rebanhos estudados, constatou-se que 12 possuíam pelo menos um animal com resultado positivo no diagnóstico sorológico, o que resulta em uma prevalência de focos de 32,4% (Tabela 1).

Tabela 1 - Prevalência de brucelose bovina em rebanhos fornecedores de leite de um laticínio no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo, 2007.

	Existentes	Examinados	Positivos		Negativos	
			Número	%	Número	%
Animais	942	813	26	3,2	787	96,8
Rebanhos	55	37	12	32,4	25	67,6

Tabela 2 - Prevalência de animais com brucelose bovina, de acordo com o município onde se localiza o rebanho, entre fornecedores de leite de um laticínio no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo, 2007.

Município	Brucelose				Total
	Sim		Não		
	Nº	%	Nº	%	
Patrocínio Paulista	13	4,5	278	95,5	291 (100%)
Itirapuã	13	2,5	509	97,5	522 (100%)
Total	26	3,2	787	96,8	813 (100%)

Tabela 3 - Prevalência de animais com brucelose bovina, de acordo com o sexo, entre fornecedores de leite de um laticínio no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo, 2007.

Sexo do animal	Brucelose				Total
	Sim		Não		
	Nº	%	Nº	%	
Fêmea	26	3,3	766	96,7	792 (100%)
Macho	0	0,0	21	100,0	21 (100%)
Total	26	3,2	787	96,8	813 (100%)

Tabela 4 - Prevalência de animais com brucelose bovina, de acordo com o fato de estarem ou não em lactação, entre fornecedores de leite de um laticínio no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo, 2007.

Lactação	Brucelose				Total
	Sim		Não		
	Nº	%	Nº	%	
Não	13	4,3	285	95,7	298 (100%)
Sim	13	2,6	481	97,4	494 (100%)
Total	26	3,3	766	96,7	792 (100%)

Tabela 5 - Prevalência de animais com brucelose bovina, de acordo com o número de animais do rebanho, entre fornecedores de leite de um laticínio no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo, 2007.

Número de animais do rebanho	Brucelose				Total
	Sim		Não		
	Nº	%	Nº	%	
1 a 30	20	4,6	415	95,4	435 (100%)
≥ 31	6	1,6	372	98,4	378 (100%)
Total	26	3,2	787	96,8	813 (100%)

Tabela 6 - Prevalência de animais com brucelose bovina, de acordo com o uso ou não de vacina B19, entre fornecedores de leite de um laticínio no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo, 2007.

Uso de vacina B19	Brucelose				Total
	Sim		Não		
	Nº	%	Nº	%	
Não	25	3,8	638	96,2	663 (100%)
Sim	1	0,7	149	99,3	150 (100%)
Total	26	3,2	787	96,8	813 (100%)

Tabela 7 - Prevalência de animais com brucelose bovina, de acordo com o fato de exigir ou não exame de brucelose antes de introduzir animal no rebanho, entre fornecedores de leite de um laticínio no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo, 2007.

Exigência de teste de brucelose	Brucelose				Total
	Sim		Não		
	Nº	%	Nº	%	
Não	25	3,7	643	96,3	668 (100%)
Sim	1	0,7	144	99,3	145 (100%)
Total	26	3,2	787	96,8	813 (100%)

Tabela 8 - Prevalência de animais com brucelose bovina, de acordo com o fato de fazer ou não teste para diagnóstico de brucelose, entre fornecedores de leite de um laticínio no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo, 2007.

Teste de brucelose	Brucelose				Total
	Sim		Não		
	Nº	%	Nº	%	
Sim	16	4,2	365	95,8	381 (100%)
Não	10	2,3	422	97,7	432 (100%)
Total	26	3,2	787	96,8	813 (100%)

Tabela 9 - Prevalência de animais com brucelose bovina, de acordo com o fato de o proprietário comprar ou não animais frequentemente, entre fornecedores de leite de um laticínio no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo, 2007.

Compra frequente de animais	Brucelose				Total
	Sim		Não		
	Nº	%	Nº	%	
Sim	21	4,4	463	95,6	484 (100%)
Não	5	1,5	324	98,5	329 (100%)
Total	26	3,2	787	96,8	813 (100%)

Tabela 10 - Prevalência de animais com brucelose bovina, de acordo com o fato de o proprietário criar ou não outras espécies domésticas, entre fornecedores de leite de um laticínio no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo, 2007.

Criação de outras espécies domésticas	Brucelose				Total
	Sim		Não		
	Nº	%	Nº	%	
Sim	26	3,5	727	96,5	753 (100%)
Não	0	0	60	100	60 (100%)
Total	26	3,2	787	96,8	813 (100%)

Tabela 11 – Razão de prevalências (RP), intervalo de confiança (IC - 95%) da razão de prevalências e probabilidade de que a associação possa ser atribuída ao acaso (P), obtida por meio do teste exato de Fisher, de acordo com o fator analisado para a prevalência de brucelose em bovinos de rebanhos fornecedores de leite de um laticínio no Município de Itirapuã, Estado de São Paulo, 2007.

Fator analisado	Tabela	RP	IC (95%)	P
Município	2	1,79	0,84 – 3,81	0,051
Sexo feminino	3	-----	-----	0,501
Não lactação	4	1,66	0,78 – 3,53	0,067
Até 30 animais no rebanho	5	2,90	1,78 – 4,72	0,011
Não uso da vacina B19	6	5,66	0,77 – 41,44	0,032
Não exigência de teste de brucelose	7	5,40	0,74 – 39,53	0,038
Teste de brucelose	8	1,81	0,83 – 3,94	0,093
Compra frequente de animais	9	2,85	1,09 – 7,48	0,018
Criação de outras espécies	10	-----	-----	0,132

Comparando as taxas de prevalência de animais com diagnóstico sorológico positivo para brucelose observadas nos dois municípios onde se localizavam os rebanhos fornecedores de leite, constata-se que em Patrocínio Paulista 4,5% dos animais eram reagentes, e em Itirapuã 2,5% tiveram diagnóstico positivo (Tabela 2). A razão de prevalências entre essas duas taxas foi de 1,79, e o intervalo de confiança foi de 0,84 a 3,81. A probabilidade de tal diferença dever-se ao acaso foi de 5,1% (Tabela 11).

A frequência de reagentes entre as fêmeas examinadas foi de 3,3%, ao passo que entre os 21 touros examinados não se encontrou nenhum animal com resultado positivo (Tabela 3). Com isso, não foi possível calcular a razão de prevalências, mas o teste exato de Fisher indicou que a diferença observada não tem significância estatística, uma vez que a probabilidade de tal diferença ser devida ao acaso foi de 50,1% (Tabela 11).

De 298 fêmeas que não estavam em lactação, 13 (4,3%) apresentaram resultado positivo, e entre as fêmeas lactantes a prevalência aparente observada foi de 2,6%, conforme se observa na Tabela 4. A razão entre essas duas taxas de prevalência foi de 1,66, com intervalo de confiança (95%) variando de 0,78 a 3,53 e diferença não significativa ($P = 0,067$) pelo teste exato de Fisher (Tabela 11).

A análise das taxas de prevalência de brucelose bovina de acordo com o tamanho do rebanho mostrou diferença estatisticamente significativa ($P = 0,011$).

Nos rebanhos que possuíam até 30 animais, observou-se que 4,6% eram positivos, enquanto nos rebanhos com mais de 31 animais essa proporção foi de 1,6% (Tabela 5). A razão de prevalências foi de 2,9, com intervalo de confiança de 1,78 a 4,72 (Tabela 11).

A frequência de animais reagentes nos rebanhos cujos proprietários declararam não usar a vacina B19 foi de 3,8%, ao passo que entre aqueles que declaram usar essa vacina a frequência de positivos foi de 0,7% (Tabela 6), resultando em razão de prevalências de 5,66 (intervalo 95% de 0,77 a 41,44) e diferença estatisticamente significativa pelo teste exato de Fisher ($P = 0,032$), conforme se vê na Tabela 11.

Nos rebanhos cujos proprietários afirmaram não exigir teste de brucelose antes de introduzir animais, a frequência de reagentes foi de 3,7%, e entre os animais daqueles que afirmaram exigir exame, a taxa foi de 0,7% (Tabela 7). A razão de prevalências foi calculada em 5,4, e o intervalo de confiança foi de 0,74 a 39,53 (Tabela 11), com diferença estatisticamente significativa ($P = 0,038$).

Observou-se uma taxa de prevalência de 4,2% de animais reagentes entre aqueles cujos proprietários declaram realizar teste de brucelose para controle da enfermidade. Entre os animais cujos proprietários declaram não realizar teste, a taxa de prevalência foi de 2,3% (Tabela 8). A razão entre essas duas taxas foi de 1,81 (0,83 - 3,94), e a diferença entre ambas não foi significativa, uma vez que P foi igual a 0,093 (Tabela 11).

Nos rebanhos em que os proprietários afirmaram comprar animais frequentemente, observou-se taxa de prevalência de 4,4%, e nos rebanhos daqueles que não compravam animais frequentemente essa taxa foi de 1,5% (Tabela 9). A razão de prevalências foi de 2,85, com intervalo de confiança de 1,09 a 7,48 (Tabela 11) e diferença estatisticamente significativa ($P = 0,018$).

Não se observou nenhum animal reagente entre aqueles localizados em propriedades onde se criam apenas bovinos, enquanto entre os animais de propriedades onde são criadas outras espécies foi observada taxa de prevalência de 3,5% (Tabela 10). Isso não permite calcular a razão de prevalências, mas a diferença entre essas duas situações revelou-se não significativa, com 13,2% de probabilidade de que possa ser atribuída ao acaso (Tabela 11).

DISCUSSÃO

Levantamento realizado na década de 1970 (BRASIL, 1977) revelou uma taxa de prevalência de brucelose de 7,5% de animais reagentes na Região Sudeste. No Estado de São Paulo, observou-se que 22,7% das propriedades tinham animais infectados e que 7,4% das fêmeas examinadas eram reagentes. Em Minas Gerais, o mesmo estudo indicou 17,7% de rebanhos com animais positivos e 6,3% de fêmeas reagentes.

O longo tempo transcorrido e a diferença de metodologia empregada dificultam a comparação com os dados observados na presente investigação, que revelou uma prevalência aparente de 3,2% e uma prevalência verdadeira estimada em 2,9%. A prevalência de focos, ou seja, rebanhos com pelo menos um animal com diagnóstico positivo, foi de 32,4%.

Outro levantamento sorológico realizado na mesma região, nos municípios de Altinópolis e Santo Antônio da Alegria, usando metodologia semelhante à deste estudo, encontrou 3,15% de animais reagentes e 16,67% de rebanhos com pelo menos um animal reagente (MURAKAMI et al., 2003). Essa comparação mostra uma situação muito parecida quanto à porcentagem de animais reagentes, porém diferente quanto à prevalência de focos, uma vez que o presente estudo encontrou o dobro da proporção de rebanhos infectados observada naquele outro estudo em municípios vizinhos.

As informações obtidas também podem ser comparadas com aquelas do levantamento realizado para o PNCEBT. No Estado de São Paulo, a prevalência de animais foi estimada em 3,8%, enquanto a prevalência de focos foi de 9,7%. Mais especificamente na região em que se encontra a população abrangida pelo presente estudo (circuito produtor 4), foi observada uma prevalência de animais de 5,52%, superior à observada neste estudo, e uma prevalência de focos de 11,11%; a prevalência de focos em rebanhos produtores de leite foi de 17,4% (DIAS et al., 2009). Essas prevalências de foco foram inferiores à observada no presente estudo. Pela comparação entre os dados nota-se ainda que, embora a prevalência de

animais reagentes na população estudada tenha sido inferior, a brucelose estaria mais disseminada, uma vez que praticamente um terço dos rebanhos teve pelo menos um animal com diagnóstico positivo.

Também é interessante comparar os dados obtidos com aqueles observados em Minas Gerais, Estado com o qual a região estudada faz fronteira. Gonçalves et al. (2009) relataram para Minas Gerais uma prevalência de 1,1% de animais infectados e 6,0% de focos. Na região de Minas que faz fronteira com a área do rebanho estudado (Sul e Sudoeste), a prevalência de animais foi de 0,4%, a mais baixa de todo o Estado, e a prevalência de focos foi de 3,8%, também a mais baixa do Estado; a prevalência de focos em rebanhos leiteiros foi de 3,59% nessa região. Pela comparação, nota-se que a prevalência em Minas Gerais é bem mais baixa que a do rebanho estudado, assim como é mais baixa que a do Estado de São Paulo, de um modo geral. Essa situação certamente tem relação com o fato de Minas Gerais ter começado um programa de vacinação obrigatória das bezerras com *Brucella abortus* B19 já em meados da década de 1990, vários anos antes do programa nacional, confirmando a importância da vacinação na diminuição da taxa de prevalência da brucelose bovina.

A comparação entre a porcentagem de reagentes nos dois municípios que tinham rebanhos fazendo parte da população-alvo não apontou diferença significativa, embora estivesse próxima disso ($P = 0,051$).

Apesar de ter sido observado que 3,3% das fêmeas examinadas tinham anticorpos contra *Brucella* e de nenhum macho reagente ter sido encontrado, a comparação entre sexos não indicou diferença significativa. Talvez essa ausência de significância possa estar relacionada ao baixo número de touros examinados, uma vez que as vacas, principalmente aquelas em gestação, constituem a categoria mais susceptível à brucelose bovina (NICOLETTI, 1980; ACHA & SZYFRES, 2001), o que leva à expectativa de maior taxa de prevalência entre as fêmeas.

A comparação entre as porcentagens de reagentes em vacas em lactação e em vacas secas também não apontou diferença significativa, apesar da taxa um pouco maior em vacas secas, o que poderia encontrar explicação no fato de a brucelose ser uma enfermidade da esfera reprodutiva, o que se reflete no fato de o animal estar ou não em lactação.

A frequência de animais reagentes em propriedades que exigem teste de brucelose antes de introduzir animais, medida inquestionavelmente útil para evitar que a infecção seja introduzida no rebanho, foi inferior (0,7%) à frequência em rebanhos que não exigem (3,7%), porém a análise estatística não apontou diferença significativa, provavelmente pelo pequeno número de produtores que fazem essa exigência.

A realização de testes para diagnóstico de brucelose também não revelou influência significativa na porcentagem de animais reagentes.

Observou-se menor porcentagem de reagentes entre animais de rebanhos compostos por pelo menos 31 animais (1,6%), em relação àqueles com até 30 (4,6%). Esses dados contrariam informações encontradas na literatura, as quais mostram que em rebanhos maiores

há maior probabilidade de infecção, prevalência mais elevada e maior dificuldade de eliminar a infecção (KELLAR et al., 1976; NICOLETTI, 1980; SALMAN & MEYER, 1984). De acordo com NICOLETTI (1980), o aumento no tamanho do rebanho usualmente é acompanhado de aumento na densidade de animais, e isso aumenta o risco de contato entre o animal susceptível e a fonte de infecção. A associação entre rebanhos maiores e frequência de animais infectados também foi observada no Estado de São Paulo. Dias et al. (2009) relataram que tamanho de rebanho igual ou superior a 87 animais mostrou-se um fator associado à taxa de prevalência. No entanto os resultados do presente trabalho não confirmaram as observações desses autores, talvez porque a população estudada seja composta, na sua grande maioria, por rebanhos bastantes pequenos, e o número de animais adotado para separar os dois grupos foi também pequeno (31), quando comparado, por exemplo, ao número de 87 animais adotado por Dias et al. (2009).

A vacinação das bezerras conforme estabelecem as normas do PNCEBT é um fator que contribui para a redução nas taxas de prevalência de brucelose, e os dados do presente trabalho também apontam nesse sentido. Em rebanhos que não adotavam a vacinação com a amostra B19, a porcentagem de animais reagentes foi de 3,8%, significativamente superior à taxa de 0,7% observada entre os rebanhos que adotavam a vacinação. Essa observação também foi feita por Kellar et al. (1976), que, em um estudo de casos-controles (o presente estudo é do tipo seccional, ou transversal, também chamado estudo de prevalência) realizado no Canadá, verificaram menor frequência de vacinação em rebanhos infectados. Também no Brasil, em Minas Gerais, foi observada menor frequência de focos de brucelose entre rebanhos que vacinavam com a amostra B 19 (GONÇALVES et al., 2009). Isso tudo confirma a utilidade da vacinação e a importância de dar ênfase a essa medida sanitária, com o objetivo de baixar significativamente a taxa de prevalência de brucelose bovina no país.

A maneira mais comum de entrada da *Brucella abortus* em um rebanho é pela introdução de animais infectados. A introdução de animais sem o devido controle sanitário tem sido apontada como fator importante por diversos autores (VAN WAVEREN, 1960; NICOLETTI, 1980). Kellar et al. (1976) também observaram maior risco de ocorrência de brucelose em rebanhos cujos proprietários fazem compras frequentes de animais. No Brasil, a importância desse fator também já foi verificada por Dias et al. (2009), no Estado de São Paulo, e por Gonçalves et al. (2009), no Estado de Minas Gerais. Esses autores enfatizaram que o risco de introdução da infecção não está na compra de animais, prática rotineira nas explorações pecuárias, mas, sim, na aquisição de animais sem os devidos cuidados sanitários, principalmente a realização de testes para verificar se o animal adquirido é infectado e para o conhecimento da condição sanitária do rebanho de origem. Concordando com todos esses autores, no presente trabalho, foi verificada maior porcentagem de animais reagentes em rebanhos cujos proprietários compravam bovinos

frequentemente (4,4%) do que em rebanhos cujos proprietários declararam não comprar animais com frequência (1,5%).

A análise univariada realizada neste estudo indicou associação significativa entre a frequência de animais reagentes e os seguintes fatores: número de animais no rebanho, não vacinação com a amostra B19 e compra frequente de animais.

REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3 ed. Washington: OPS, 2001. v.1, p.28-56.

ALTON, G. G.; JONES, L. M.; ANGUS, R. D.; VERGER, J. M. **Techniques for the brucellosis laboratory**. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique, 1988. 190p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Diagnóstico de saúde animal**. Brasília, 1977. p.525-602.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 2, de 10 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 jan. 2001. Seção 1, p.11-17.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 20 set. 2002. Seção 1, p.13.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de defesa Agropecuária. Instrução Normativa n.6, de 08 de janeiro de 2004. Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 jan. 2004. Seção 1, p.6-10.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de defesa Agropecuária- **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT)**. Brasília: Departamento de Saúde Animal, 2006. 188p. (Manual Técnico)

DIAS, R. A.; GONÇALVES, V. S. P; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; LIMA, Z. M. B.; PAULIN, L. M. S.; GUNNEWIEK, M. F. K.; AMAKU, M.; FERREIRA NETO, J. S.; FERREIRA, F. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de São

Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, supl.1, p.118-125, 2009.

DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. **Veterinary epidemiologic research**. Charlottetow: AVC, 2003. 706p.

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

KELLAR, J.; MARRA, R.; MARTIN, W. Brucellosis in Ontario: A case control study. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v.40, n.2, p.119-128, 1976.

MURAKAMI, T. O.; MATHIAS, L. A.; GIRIO, R. J. S.; OLIVEIRA, A. V.; PUPIN, A. R. S. A. Estimativa da prevalência da brucelose bovina nos municípios de Altinópolis e Santo Antônio da Alegria, Estado de São Paulo. **Ars Veterinaria**, v.19, n.1, p.63-70, 2003.

NICOLETTI, P. The epidemiology of bovine brucellosis. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, v.24, p.69-98, 1980.

POESTER, F. P.; GONÇALVES, V. S. P.; LAGE, A. P. Brucellosis in Brazil. **Veterinary Microbiology**, v.90, p.55-62, 2002.

SALMAN, M. D.; MEYER, M. E. Epidemiology of bovine brucellosis in the Mexicali Valley, Mexico: Literature review of disease-associated factors. **American Journal of Veterinary Research**, v.45, n.8, p.1557-1560, 1984.

SCHWABE, C. W.; RIEMANN, H. P.; FRANTI, C. E. **Epidemiology in veterinary practice**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1977. 303p.

VAN WAVEREN, G. M. The control of brucellosis in cattle in the Netherlands. **Veterinary Record**, v.72, n.44, p.928-933, 1960.