

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Situação epidemiológica da Brucelose bovina no Estado da Paraíba, Brasil.

Camila de Sousa Bezerra

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Paraíba, Brasil.

Camila de Sousa Bezerra
Graduanda

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo
Orientador

Patos-PB
Janeiro de 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

B574s Bezerra, Camila de Sousa
Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Paraíba,
Brasil / Camila de Sousa Bezerra. – Patos, 2016.
33f.: il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) -
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia
Rural, 2016.

“Orientação: Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo”

Referências.

1. Bovino. 2. Brucelose. 3. Prevalência. 4. Paraíba. 5. Brasil.
I. Título.

CDU 614

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

CAMILA DE SOUSA BEZERRA
Graduanda

Monografia submetida ao curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para a obtenção do grau de Médica Veterinária.

APROVADA EM/...../.....

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA

_____ Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo Orientador	_____ Nota
_____ Dr. Severino Silvano dos Santos Higinio Examinador I	_____ Nota
_____ MSc. Carla Louise Rodrigues Menezes Pimenta Examinadora II	_____ Nota

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

CAMILA DE SOUSA BEZERRA
Graduanda

Monografia submetida ao curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para a obtenção do grau em Médica Veterinária.

Aprovada em:/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo
Orientador

Dr. Severino Silvano dos Santos Higinio
Examinador I

MSc. Carla Lauise Rodrigues Menezes Pimenta
Examinador II

DEDICATÓRIA

A Deus por me dar forças de onde eu pensava que não existia para continuar a caminhada.

A minha mãe Carmelita e ao meu pai Diassis que sempre me mostraram o verdadeiro valor da educação, um bem intransferível e imutável. Amo muito vocês!

Ao meu grande amor, amigo, companheiro e namorado Fabrício Renan, que compartilhou comigo todos os momentos dessa caminhada e me mostrou o verdadeiro valor da Medicina Veterinária. Minhas conquistas são suas!

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Carmelita por todo esforço e dedicação, sem nunca esperar nada em troca e por sempre me ensinar sua bondade e seus valores. Não existem palavras para te agradecer, você é meu maior presente.

Ao meu pai Diassis, que descansa em Deus, que com seu jeito simples me ensinou o verdadeiro valor da vida e das pessoas, e que sempre lutou por mim e pelos meus objetivos. Você sempre será minha inspiração e minha saudade, te amo Painho.

Ao meu namorado Fabrício Renan, que pela vontade de Deus não pôde estar em matéria para compartilhar essa etapa tão esperada por nós, mas que nos momentos mais difíceis me fez acreditar em dias melhores e nos momentos de alegria me fez sentir merecedora. A você dedico a minha gratidão, o meu amor e a minha saudade.

As minhas irmãs Daniela e Priscila, por estarem sempre ao meu lado e acreditarem que eu era capaz, meu muito obrigada. Ao meu cunhado Padã e ao meu sobrinho Gabriel que enche minha vida de alegria e de amor.

A minha sogra Sandra Cristina por ser uma mulher guerreira e amiga fiel com quem posso contar sempre e ao meu sogro Hélio por sempre me dedicar amor e atenção, amo vocês. Aos meus cunhados Felipe e Julia Verônica, meu muito obrigada. Ao meu sobrinho Luís Felipe que com sua doçura cativou um lugar especial em minha vida, amo muito você.

Ao meu orientador Sérgio Azevedo, por me instruir nessa caminhada acadêmica e por ser um pesquisador exemplar no qual busco inspiração.

Ao grupo de Pesquisa do Laboratório de Doenças Transmissíveis pelo companheirismo em todas as atividades exercidas e por compartilhar dos momentos de trabalho. A Carla, Silvano, Artur, Leise, Inácio que foram pessoas essenciais na realização desse trabalho.

A Aline Ferreira e Érico por todo o apoio na caminhada acadêmica e fora dela, e por serem amigos fiéis, meu muito obrigada!

A minha amiga Raira que mesmo longe acompanhou toda a minha caminhada acadêmica e me ajudou a nunca desistir.

A Jade, Isabela e Ariana por todo o apoio em sala de aula e fora dela, e por encherem meus dias acadêmicos de alegria.

A todos os meus professores em especial Professor Gil, Professor Sérgio, Professora Sara, Professora Norma por serem grandes mestres na Medicina Veterinária e na Vida.

Ao Dr Zeno Fixina por ser um exemplo de Médico Veterinário e um amigo com quem posso contar.

A todos que de alguma maneira me ajudaram nessa caminhada acadêmica meu muito obrigada, hoje sei que as dificuldades existem para serem verdadeiramente vencidas!

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Definição	15
2.2 Etiologia	15
2.3 Importância econômica	16
2.4 Distribuição Geográfica	16
2.5 Transmissão.....	17
2.6 Patogenia	18
2.7 Sinais clínicos.....	19
2.8 Doença no homem.....	20
2.9 Diagnóstico.....	20
2.10Prevenção e Controle	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Delineamento amostral.....	23
3.2 Atividades de campo	24
3.3 Diagnóstico sorológico da infecção por <i>Brucella abortus</i>	24
3.4 Cálculo das Prevalências	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados censitários da população bovina do Estado da Paraíba em 2012, segundo o circuito produtor.....26 Pág.

Tabela 2. Prevalência de focos de brucelose bovina, segundo o circuito produtor, no Estado da Paraíba.....27 Pág.

Tabela 3. Prevalência (Prev) de focos de brucelose bovina estratificada pelo tipo de exploração, segundo o circuito produtor, no Estado da Paraíba.....27 Pág.

Tabela 4. Prevalência de bovinos sororreagentes para brucelose, segundo o circuito produtor, no Estado da Paraíba.....27 Pág.

RESUMO

BEZERRA, CAMILA DE SOUSA. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Paraíba, Brasil. Patos. UFCG. 2016 34p (Monografia-Curso de Medicina Veterinária, Medicina Veterinária preventiva e Saúde Animal).

Realizou-se um estudo para caracterizar a situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Paraíba. O Estado foi dividido em três circuitos produtores. Em cada circuito foram amostradas aleatoriamente propriedades e, dentro dessas, foi escolhido de forma aleatória um número pré-estabelecido de animais. No total, foram amostrados 3.489 animais, provenientes de 674 propriedades. O protocolo de testes utilizado foi o da triagem com o teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) e confirmação dos positivos com o teste do 2-mercaptoetanol (2-ME), paralelo ao Teste de Soroaglutinação Lenta em Tubos (SALT). O rebanho foi considerado positivo quando pelo menos um animal foi reagente às duas provas sorológicas. Para o Estado, as prevalências de focos e de animais infectados foram, respectivamente, de 4,6% [3,2% - 6,5%] e 2,5% [1,1% - 3,9%]. Para os circuitos, as prevalências de focos e de animais infectados foram, respectivamente, de: circuito 1, 3,2% [1,5% - 6,6%] e 1,7% [0,5% - 5,7%]; circuito 2, 2,2% [0,9% - 5,2%] e 0,7% [0,3% - 1,7%]; e circuito 3, 7,9% [5,0% - 12,2%] e 3,2% [1,6% - 6,3%].

Palavras-chave: bovino, brucelose, prevalência, Paraíba, Brasil.

ABSTRACT

BEZERRA, CAMILA DE SOUSA. Epidemiological situation of bovine brucellosis in the State of Paraíba, Brazil. Patos. UFCG. 2015 34p (Monograph-Course of Veterinary Medicine, Preventive Veterinary and Animal Health).

A study to characterize the epidemiological status of brucellosis was carried out in the State of Paraíba. The State was divided in three regions. Herds were randomly sampled in each region and a pre-established number of animals were sampled in each of these herds. A total of 3,489 serum samples from 674 herds were collected. The serum samples were screened for antibodies against *Brucella* spp. by the Rose-Bengal Test (RBT), and all positive sera were confirmed by the 2-mercaptoethanol test (2-ME). The herd was considered positive if at least one animal was positive in both RBT and 2-ME tests. The prevalence of infected herds and animals in the State were, respectively, 4.6% [3.2% - 6.5%] and 2.5% [1.1% - 3.9%]. The prevalence of infected herds and animals in the regions were, respectively: region 1, 3.2% [1.5% - 6.6%] and 1.7% [0.5% - 5.7%]; region 2, 2.2% [0.9% - 5.2%] and 0.7% [0.3% - 1.7%]; and region 3, 7.9% [5.0% - 12.2%] and 3.2% [1.6% - 6.3%].

Keywords: cattle, brucellosis, prevalence, Paraíba, Brazil.

1 INTRODUÇÃO

A brucelose bovina é uma doença bacteriana de evolução crônica e caráter granulomatoso difuso, caracterizada pela infecção de células do sistema mononuclear fagocitário, causada por uma bactéria intracelular facultativa integrante do gênero *Brucella*, e apresentando-se em todo o mundo como problema sanitário e econômico (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003). O principal agente etiológico é a *Brucella abortus*, cujo biotipo 1 é o mais frequente (ACHA; SZYFRES, 2003). A doença está incluída na lista de doenças da *World Organization for Animal Health* (Organização Mundial de Saúde Animal - OIE), ou seja, é uma doença transmissível de importância sócioeconômica e/ou de saúde pública e que pode ter impacto significativo no comércio internacional de animais e de seus subprodutos (OIE, 2005).

A Instrução Normativa Nº 2 (BRASIL, 2001) instituiu o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), que visa promover a qualidade dos produtos de origem animal oferecidos ao consumidor, melhorar a imagem que o país projeta nos mercados mundiais e contribuir para a modernização das cadeias produtivas de leite e carne. Os objetivos do programa são: (a) baixar a prevalência e a incidência de novos casos de brucelose e de tuberculose; e (b) criar um número significativo de propriedades certificadas que ofereçam ao consumidor produtos de baixo risco sanitário. Para isso, as estratégias de ação do programa incluem medidas compulsórias de eficácia comprovada (vacinação de bezerras contra a brucelose e o controle do trânsito de animais destinados à reprodução) e medidas de adesão voluntária (certificação de propriedades livres e de propriedades monitoradas).

A brucelose bovina está presente em todo o território Brasileiro (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003), no entanto, a situação epidemiológica da doença não era bem conhecida no país e, somente com a implantação do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) em 2001 (BRASIL, 2006), os Estados Brasileiros iniciaram a realização de inquéritos epidemiológicos da doença com o objetivo de determinar as prevalências de focos e de animais positivos, bem como identificar os fatores de risco. Até o momento foram conduzidos inquéritos epidemiológicos em 17 Estados, sendo evidenciado que as menores prevalências foram observadas no Estado de Santa Catarina (SIKUSAWA et al., 2009), com 0,32% de focos e 0,06% de animais soropositivos, e as maiores foram obtidas nos Estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, com mais de 40%

de focos e mais de 10% de animais soropositivos (CHATE et al., 2009; NEGREIROS et al., 2009).

O conhecimento da situação epidemiológica da brucelose bovina é de grande importância quando se pretende implementar um programa de controle e erradicação, pois possibilita a escolha de estratégias adequadas, que podem diferir de acordo com a frequência e distribuição da doença. Vale ressaltar que o Brasil é um país de grande extensão territorial e que a implementação de um programa de controle nacional demanda custos elevados. Conhecendo-se a situação inicial, torna-se possível o acompanhamento da evolução do programa e a sua avaliação racional, incluindo a necessidade da adoção de medidas que impeçam o desperdício de tempo e recursos. Exemplo claro é o Estado de Santa Catarina, no qual a prevalência de focos de brucelose bovina foi de 0,02% (IC 95% = 0,00 – 0,15), a prevalência de animais soropositivos foi de 0,06% (IC 95% = 0,01 – 0,4) e em 98,36% das propriedades a vacinação não era praticada (SIKUSAWA, 2009), sendo, portanto, desnecessária a implantação de vacinação obrigatória. Com base nos resultados do inquérito soropidemiológico realizado neste estado, o MAPA publicou uma portaria em 2004 excluindo a obrigatoriedade de vacinação contra a brucelose bovina (BRASIL, 2004b).

No Estado da Paraíba foram conduzidos estudos sorológicos sobre a ocorrência de brucelose bovina (ALVES et al., 2003; LEITE et al., 2003; FIGUEIREDO et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2013), no entanto, os delineamentos amostrais empregados não foram adequados para a identificação das prevalências de focos e de animais soropositivos. Dessa maneira, o presente estudo teve por objetivos determinar as prevalências de focos e de animais soropositivos no Estado e fornecer subsídios para a melhor implementação e gestão do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Definição

A brucelose bovina é uma doença infectocontagiosa, bacteriana, de evolução crônica e caráter granulomatoso, tendo como principal agente etiológico a *Brucella abortus* (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

Trata-se de uma antroponose de caráter ocupacional e distribuição universal, sua presença reflete em grandes impactos econômicos (CASTRO et al., 2005), pois além de interferir negativamente na produção de carne e leite, e reduzir a produção de bezerros, a doença causa prejuízos indiretos, como gastos com tratamento em humanos, diminuição da capacidade operacional e custos com medidas de controle de surtos, além de colocar o país em desvantagem na comercialização de animais e seus subprodutos (MIRANDA et al., 2008).

A doença também é conhecida como febre de malta, uma vez que sua primeira descrição ocorreu em soldados britânicos na Ilha de Malta, em 1887, ocasião em que Sir David Bruce isolou o *Micrococcus melitensis* (GODFROID et al., 2005). Em 1895, o patologista veterinário Bernhard Bang isolou o *Bacillus abortus* a partir de fetos abortados de bovinos, identificando como a causa do aborto enzoótico dos bovinos ou mal de Bang (NICOLETTI, 2002). Esses microrganismos foram renomeados como *Brucella melitensis* e *Brucella abortus*, respectivamente, em homenagem ao descobridor (LEÓN, 1994).

2.2 Etiologia

As principais espécies reconhecidas de *Brucella* são *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis* e *B. canis*. As três primeiras espécies, denominadas brucelas clássicas, são subdivididas em biovars por diferenças nas características bioquímicas e comportamento da bactéria. A *B. abortus* possui sete (1 – 7) biovars sendo o biovar 1 mais frequente (ACHA; SZYFRES, 2003). O principal agente da brucelose bovina é a *B. abortus*, porém as infecções por *B. suis* e *B. melitensis* podem acontecer quando há o contato com suínos, caprinos e/ou ovinos infectados (ACHA; SZYFRES, 2003).

As bactérias do gênero *Brucella* são parasitas intracelulares facultativas, com morfologia de cocobacilos gram-negativos e imóveis. Apresentam crescimento lento e não formam esporos. Com base no aspecto das colônias são classificadas em lisas e rugosas. A

Brucella abortus é lisa, e esse aspecto se deve à presença do lipopolissacarídeo LPS-S. O mesmo possui três regiões distintas: o lipídio A, um oligossacarídeo intermediário e o polissacarídeo O, também chamado de cadeia O (CASTRO et al., 2005).

Segundo Gonzalez et al. (2006) as bactérias do gênero *Brucella* possuem resistência a condições adversas de ambiente como extremos pH, temperatura e luz solar direta. Sua permanência no ambiente aumenta em condições como presença de sombra, umidade e baixas temperaturas (WRAY, 1975). Crawford et al. (1990) revelou a permanência da bactéria até 180 dias no feto à sombra e 200 dias no exsudato uterino. Meios de destruição da bactéria como desinfetantes clorados, soluções de formaldeído e compostos fenólicos inativam o microrganismo a partir de 15 minutos de exposição (CASTRO et al., 2005), além da pasteurização, que é um método eficiente de destruição da *B. abortus* (RUSSEL et al., 1984).

2.3 Importância econômica

A brucelose bovina está incluída na lista de doenças da *World Organization for Animal Health* (Organização Mundial de Saúde Animal - OIE), ou seja, é uma doença transmissível de importância sócioeconômica e/ou de saúde pública e que pode ter impacto significativo no comércio internacional de animais e de seus subprodutos (OIE, 2005).

A brucelose bovina é uma doença da esfera reprodutiva, que causa problemas como abortamentos, nascimento de crias fracas e baixa fertilidade, levando a perdas econômicas para a pecuária nacional. Além de ser uma importante zoonose, sua presença em determinada região colocam os produtos em posição desvantajosa na disputa de novos mercados. Estima-se que a brucelose bovina seja responsável pela diminuição de 25% na produção de leite e de carne e pela redução de 15% na produção de bezerros (BERNUÉS et al., 1997; MIRANDA et al., 2008). Dentre as perdas indiretas, é importante destacar a infecção em humanos, que levam a custos no diagnóstico e tratamento, além da diminuição da produção de trabalho (BRASIL, 2006).

2.4 Distribuição Geográfica

Em alguns países como a Dinamarca, Finlândia, Suécia, Noruega, Austrália, Alemanha, Holanda e Luxemburgo, a brucelose bovina foi erradicada, tendo estes a

qualificação de livres da doença. Outros encontram-se em fase adiantada de erradicação, como França, Grécia, Irlanda, Portugal e Espanha (GODFROID; KÄSBOHRER, 2002).

A brucelose bovina está presente em todo o território brasileiro. A doença acomete os bovinos de corte e leite e também os bubalinos. Em 1975, foi realizado um diagnóstico da situação da doença no Brasil e a frequência de animais soropositivos foi estimada em 4,0% na Região Sul, 7,5% na Região Sudeste, 6,8% na Região Centro-Oeste, 2,5% na Região Nordeste e 4,1% na Região Norte. Posteriormente, foram efetuados outros cinco levantamentos sorológicos estaduais por amostragem nos quais foram constatadas pequenas alterações: no Rio Grande do Sul a prevalência passou de 2,0%, em 1975, para 0,3% em 1986; em Santa Catarina passou de 0,2%, em 1975, para 0,6% em 1996; no Mato Grosso do Sul a prevalência estimada em 1998 foi de 6,3%, similar ao valor encontrado em 1975; em Minas Gerais passou de 7,6%, em 1975, para 6,7% em 1980; no Paraná, a prevalência estimada em 1975 foi de 9,6%, passando para 4,6% em 1989. As notificações oficiais indicam finalmente que, no país como um todo, no período de 1988 a 1998 a prevalência de animais soropositivos se manteve entre 4% e 5% (BRASIL, 2001).

Na ocasião da implementação do Programa de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina (PNCEBT) no Brasil, em 2001, foram planejados estudos epidemiológicos nas Unidades Federativas com o intuito de determinar a situação epidemiológica da infecção. Nesses estudos foram determinadas as prevalências de focos (propriedades com pelo menos um animal positivo para a doença), como segue: Santa Catarina 0,32%; Rio grande do Sul 2,06%; Distrito Federal 2,52%; Paraná 4,02%; Bahia 4,2%; Minas Gerais 6,04%; Espírito Santo 9%; São Paulo 9,7%; Sergipe 12,60%; Rio de Janeiro 15,42%; Goiás 17,54%; Tocantins 21,22%; Rondônia 35,18%; Mato Grosso 41,2 %; Mato Grosso do Sul 41,5%. (SIKUSAWA et al., 2009; MARVULO et al., 2009; GONÇALVES, et al., 2009b; DIAS, J. A., et al., 2009; ALVES et al., 2009; GONÇALVES et al., 2009a; AZEVEDO et al., 2009; DIAS, R. A., et al., 2009; SILVA et al., 2009; KLEIN-GUNNEWIEK et al., 2009; ROCHA et al., 2009; OGATA et al., 2009; VILLAR et al., 2009; NEGREIROS et al., 2009; CHATE et al., 2009).

2.5 Transmissão

As fontes de infecção da brucelose bovina constituem os animais infectados, e o microrganismo está em maior quantidade no conteúdo do útero prenhe, no feto abortado, nas

membranas fetais, sêmen e leite, os quais devem ser considerados como as principais vias de eliminação (ACHA; SZYFRES, 2003). A *B. abortus* não se multiplica no ambiente, porém persiste em concentrações elevadas por alguns dias após o aborto, o que favorece a sua disseminação no rebanho (CAMPERO, 1993).

Segundo Acha e Szyfres (2003), a transmissão no rebanho ocorre por contato direto e indireto com pastagens e águas contaminadas, fetos, descargas uterinas, leite e sêmen infectado, sendo as portas de entrada da bactéria a oro-faríngea, mucosas e pele íntegra. Hábitos dos bovinos como lamber e cheirar animais recém-nascidos, ou mesmo fetos abortados, principalmente por outras vacas, favorecem a transmissão da brucelose.

A participação dos touros na transmissão da doença pela monta natural é pequena, pois a vagina apresenta barreiras inespecíficas que dificultam a infecção (CAMPERO, 1993). Entretanto, na inseminação artificial, o sêmen contaminado por *B. abortus* é altamente infeccioso por ser depositado diretamente no útero (CRAWFORD et al. 1990; CAMPERO, 1993). Por este motivo o touro infectado não pode ser utilizado como doador de sêmen (BRASIL, 2006). Por outro lado, a transferência de embriões, desde que realizada conforme recomendações internacionais, é uma técnica segura para o controle de brucelose e já foi empregada para aproveitamento de vacas de alta linhagem com sucesso (STRINGFELLOW; SEIDEL, 1999).

A infecção transplacentária pode ocorrer nos bezerros nascidos de fêmeas infectadas, mas sua frequência é muito baixa. A infecção ocorre no útero e pode permanecer latente no bezerro durante o início de vida. O animal pode permanecer sorologicamente negativo até seu primeiro parto, quando em seguida começa a eliminar o microrganismo (BANDEIRA, 2011).

2.6 Patogenia

Após a *B. abortus* atravessar a barreira mucosa, adere-se a receptores específicos nos macrófagos. Estas células por sua vez fagocitam o agente, que sobrevive e multiplica-se no seu interior, inibindo a fusão do fagolisossoma (HIRSH; ZEE, 1999). Por serem patógenos intracelulares facultativos, as brucelas ficam protegidas da ação de antibióticos e dos mecanismos de defesa imunológica, o que justifica a natureza crônica da infecção (CASTRO et al., 2005).

Após a multiplicação no sítio de entrada, a *B. abortus* é transportada para os linfonodos regionais, nos quais pode permanecer por meses (THOEN et al., 1993). Se a

bactéria não for destruída ou não se tornar localizada, há a disseminação para vários órgãos por via linfática ou hematogena, localizando-se preferencialmente nos linfonodos, baço, fígado, aparelho reprodutor masculino, úbere, útero e eventualmente nas articulações (ACHA; SZYFRES, 2003).

A localização preferencial das brucelas nos testículos e útero gestante se deve a presença do hormônio eritritol, pelo qual a bactéria tem grande tropismo. Devido as lesões inflamatórias-necróticas causadas pela *B. abortus*, ocorre abortamento nas fêmeas e orquite-epididimite nos machos (SAMARTINO; ENRIGHT, 1993).

Com o desenvolvimento da imunidade celular após o primeiro abortamento, há diminuição do número e tamanho das lesões na placenta das gestações subsequentes. Com isso, o aborto torna-se infrequente, ocorrendo outras manifestações como retenção da placenta, natimortalidade e nascimento de bezerros fracos (NICOLETTI, 1990).

A proteção contra a infecção e a eliminação da bactéria do organismo dependem da resposta imune e da produção de anticorpos específicos contra a cadeia O presente no LPS-S da bactéria, os quais tem sido bastante estudados para detecção de animais positivos nas provas sorológicas (GORVEL; MORENO, 2002).

Segundo Castro et al., (2005), os primeiros anticorpos produzidos durante a infecção são os IgM, seguidos de IgG e IgA. A observação por períodos prolongados da resposta humoral em animais infectados demonstra que há um leve decréscimo dos níveis de IgM, enquanto que os níveis de IgG1 permanecem altos, inalterados (BRASIL, 2006).

2.7 Sinais clínicos

O principal sinal clínico da infecção por *B. abortus* é o abortamento, que ocorre em torno do 7º mês de gestação (ACHA; SZYFRES, 2003; PAULIN; FERREIRA NETO, 2008), porém, a partir da segunda gestação pós-infecção os abortamentos são menos frequentes, decrescendo em 20 a 25%. Raramente os abortamentos reincidem na terceira prenhez (CORBEL et al., 2006).

Os touros apresentam orquite, epididimite e vesiculite, com conseqüente infertilidade por diminuição da qualidade espermática (CAMPERO, 1993). Uma ou ambas as bolsas escrotais podem estar acometidas com edema doloroso, agudo, duas vezes o tamanho normal. O edema persiste por considerável período, e o testículo sofre necrose de liquefação e é

eventualmente destruído. As vesículas seminais podem ser acometidas, e seu aumento de tamanho pode ser detectado na palpação retal (RADOSTITS et al., 2007).

2.8 Doença no homem

A brucelose humana é uma doença importante, porém de difícil diagnóstico, devido à sintomatologia inespecífica. Apresenta caráter ocupacional, sendo mais comumente infectados os tratadores, veterinários, magarefes e laboratoristas (CORBEL et al., 2006).

A transmissão da doença ocorre pelo contato do agente com mucosas ou soluções de continuidade da pele, sendo o grande risco para a saúde pública a transmissão decorrente da ingestão de leite cru ou de produtos lácteos não submetidos a tratamento térmico (queijo fresco, iogurte, creme, etc.), oriundos de animais infectados. A carne crua com restos de tecido linfático e o sangue de animais infectados podem conter microrganismos viáveis e, portanto, representam importante risco para a população humana consumidora (GARCIA-CARRILLO, 1987).

O período de incubação em geral dura de uma a três semanas podendo se prolongar por vários meses. Seu curso pode ser dividido em duas fases: uma fase aguda com sinais semelhantes aos que ocorrem em processos bacterianos generalizados e uma fase crônica. Na fase aguda prevalecem a febre, debilidade, cefaléia, dores musculares e articulares, sudorese noturna intensa, calafrios e prostração. Podem ocorrer complicações como encefalites, meningites, neurites periféricas, espondilites, artrites supurativas, endocardites vegetativas, orquites, vesiculites seminal e prostatites. O curso crônico da doença pode durar anos com ou sem presença de focos de infecção localizada. Os sintomas estão associados com um estado de hipersensibilidade (ACHA; SZYFRES, 2003).

2.9 Diagnóstico

O diagnóstico da brucelose bovina pode ser realizado por meio de métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos consistem na identificação da bactéria ou seus componentes nos tecidos dos animais infectados. O isolamento é uma técnica que pode ser utilizada, porém, além da *Brucella abortus* apresentar crescimento lento e de ser bastante fastidiosa, há considerável risco de transmissão acidental para o laboratorista, pois envolve a manipulação de placentas contaminadas, exsudatos vaginais, sêmen, tecidos de fetos abortados ou leite

contaminado (ALTON et al., 1988; CORBEL et al., 2006). Os métodos indiretos, os quais se baseiam na detecção de anticorpos no soro ou leite, são os mais utilizados por possibilitarem um diagnóstico rápido e de menor custo (NIELSEN, 2002).

Alguns fatores como condição vacinal, estágio de gestação e período de incubação podem influenciar a resposta das provas sorológicas, com reações falso-positivas ou falso-negativas, sendo a melhor estratégia a combinação de testes em série. É utilizado um teste de triagem de boa sensibilidade, e os animais que apresentarem resultados positivos são submetidos ao teste confirmatório, que deve apresentar boa sensibilidade e especificidade (BRASIL, 2006).

O PNCEBT definiu como oficiais os seguintes testes para diagnóstico de brucelose bovina: Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), Anel em Leite (TAL), 2-Mercaptoetanol (2-ME) e Fixação de Complemento (FC), sendo os dois primeiros como testes de triagem e os dois últimos como provas confirmatórias (BRASIL, 2006).

2.10 Prevenção e Controle

A maioria dos países com brucelose possuem programas para controlar e erradicar a infecção dos bovinos, a fim de reduzir as perdas econômicas e proteger os seres humanos da doença. Os programas, quando bem estruturados e administrados, atingem bons índices de controle, com redução significativa da prevalência em aproximadamente 20 anos de trabalho (POESTER et al., 2009).

O controle da brucelose apoia-se principalmente em ações de vacinação massal de fêmeas e diagnóstico-sacrifício dos animais positivos. Com uma cobertura vacinal ao redor de 80% a frequência de animais infectados será baixa; por essa razão, a vacinação deve ser priorizada nas fases iniciais do programa, quando as prevalências são elevadas. A eliminação das fontes de infecção, feita por meio de uma rotina de testes diagnósticos com sacrifício dos positivos, é a base das ações que visam criar propriedades livres da doença. Por esses motivos é importante conhecer a epidemiologia da doença, e a população em que as ações deverão ser desenvolvidas a fim de escolher a melhor estratégia para implementá-las (BRASIL, 2006).

A vacina B19, uma vacina viva atenuada produzida com amostra lisa de *B. abortus*, é a mais utilizada atualmente no Brasil. Esta vacina induz uma proteção eficiente, duradoura, mas com alguns efeitos indesejáveis, como a produção de anticorpos que interferem no diagnóstico sorológico, abortamentos e administrada em fêmeas prenhes e orquite e

epididimite quando utilizada em machos, além de ser patogênica para o ser humano. Essa vacina deve ser utilizada em bezerras entre 3 e 8 meses de idade, e os animais vacinados só poderão ser submetidos às provas diagnósticas com idade ≥ 24 meses (CAMPERO, 1993; CORBEL et al., 2006). Os níveis de anticorpos observados em animais vacinados com a B19 até 8 meses de idade atingem títulos inferiores a 25 UI depois de 12 meses, o que não ocorre naqueles vacinados com idade superior a 8 meses, onde os títulos de anticorpos tendem a permanecer elevados por mais tempo, podendo gerar reações falso-positivas nos testes indiretos de diagnóstico (NIELSEN, 2002).

Outra vacina aprovada no Brasil é a RB51, que é produzida a partir de amostras rugosas de *B. abortus* que, portanto, não interfere no diagnóstico sorológico em função da ausência da cadeia O. Essa vacina vem sendo utilizada em muitos países, como Estados Unidos da América, México e Chile em seus programas de erradicação. No Brasil, a RB51 é empregada para a vacinação estratégica de fêmeas adultas (BRASIL, 2006).

Com o objetivo de diminuir o impacto negativo da brucelose bovina na saúde humana e animal, além de promover a competitividade da pecuária nacional, em 2001 foi instituído o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), com medidas de adesão voluntária e obrigatórias.

As medidas compulsórias têm eficácia comprovada e permitem obter uma importante redução da prevalência e da incidência da doença a custos reduzidos. Trata-se da vacinação de bezerras entre 3 a 8 meses com a B19 e do controle do trânsito de animais destinados à reprodução. As ações de adesão voluntária dizem respeito à certificação de propriedades livres e de propriedades monitoradas, que nada mais são do que um instrumento que os produtores e o setor agroindustrial utilizarão para agregar valor aos seus produtos (BRASIL, 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Delineamento amostral

Para se conhecer as diferenças regionais dos parâmetros epidemiológicos da brucelose bovina, o Estado da Paraíba foi dividido em três circuitos produtores de bovinos, levando-se em consideração as suas mesorregiões. A divisão do Estado em regiões correspondentes a circuitos produtores também levou em conta a capacidade operacional, logística e financeira do serviço veterinário oficial do Estado para a realização das atividades de campo, baseando-se nas áreas de atuação das suas unidades regionais.

Em cada circuito produtor, estimou-se a prevalência de propriedades infectadas pela brucelose bovina e a de animais soropositivos por meio de um estudo amostral em dois estágios, para detectar focos de brucelose. No primeiro estágio, sorteou-se, de forma aleatória, um número pré-estabelecido de propriedades com atividade reprodutiva (unidades primárias de amostragem) e, no segundo, um número preestabelecido de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses (unidades secundárias de amostragem).

Em propriedades rurais com mais de um rebanho, foi escolhido como alvo do estudo o rebanho bovino de maior importância econômica, no qual os animais estavam submetidos ao mesmo tipo de manejo, ou seja, sob os mesmos fatores de risco. A escolha da unidade primária de amostragem foi aleatória, baseada no cadastro de propriedades rurais com atividade reprodutiva de bovinos. A propriedade sorteada que, por motivos vários, não pôde ser visitada, foi substituída por outra, nas proximidades, com as mesmas características de produção. O número de propriedades sorteadas por circuito foi determinado pela fórmula para amostras simples aleatórias proposta por Thrusfield (2007). Os parâmetros adotados para o cálculo foram: nível de confiança de 0,95, prevalência estimada de 0,25 e erro de 0,05. A capacidade operacional e financeira do serviço veterinário oficial do Estado também foi levada em consideração para a determinação do tamanho da amostra por circuito.

Para as unidades secundárias, estimou-se um número mínimo de animais a serem examinados dentro de cada propriedade de forma a permitir a sua classificação como foco ou não foco de brucelose. Para tanto, foi utilizado o conceito de sensibilidade e especificidade agregadas (DOHOO et al., 2003). Para efeito dos cálculos foram adotados os valores de 95% e 99,5%, respectivamente, para a sensibilidade e a especificidade do protocolo de testes utilizado (FLETCHER et al., 1998) e 20% para a prevalência intra-rebanho estimada. Nesse

processo foi utilizado o programa Herdacc versão 3 e o tamanho da amostra escolhido foi aquele que permitiu valores de sensibilidade e especificidade de rebanho iguais ou superiores a 90%. Assim, nas propriedades com até 99 fêmeas com idade superior a 24 meses, foram amostrados 10 animais e nas com 100 ou mais fêmeas com idade superior a 24 meses, foram amostrados 15 animais. A escolha das fêmeas dentro das propriedades foi casual sistemática. As fêmeas no período de peri-parto ou aborto, ou seja, aproximadamente 15 dias antes e após o parto ou aborto, foram excluídas da seleção.

3.2 Atividades de campo

As atividades de campo incluíram a colheita de sangue e envio das amostras para o Laboratório de Doenças Transmissíveis da Universidade Federal de Campina Grande, em Patos, PB, entre os meses de agosto de 2012 e junho de 2013.

As amostras de sangue foram colhidas de fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses, em volumes de 10 ml, pela punção da veia jugular com agulha descartável e tubo com vácuo (sem anticoagulante) com capacidade de 15 ml. A identificação dos tubos utilizou um código de 11 dígitos, dos quais os nove dígitos iniciais significam o código do rebanho e os dois dígitos finais a sequência do número da fêmea amostrada. Após o dessoramento, o soro foi transferido para microtubos e congelado. O transporte das amostras para o laboratório foi feito em caixas de isopor com gelo.

3.3 Diagnóstico sorológico da infecção por *Brucella abortus*

O teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) foi utilizado como prova de triagem e os soros que reagiram positivamente no mesmo foram submetidos à prova confirmatória do 2-mercaptoetanol (2-ME) (BRASIL, 2004a). Paralelamente ao teste do 2-ME, foi realizado o teste de Soroaglutinação Lenta em Tubos (SALT) (BRASIL, 2001).

O diagnóstico laboratorial foi realizado no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Patos – PB.

3.4 Cálculo das Prevalências

A propriedade foi considerada positiva quando se detectou pelo menos um animal positivo. As propriedades que apresentaram animais com resultado sorológico inconclusivo,

com ausência de positivos, foram classificadas como suspeitas e excluídas das análises. O mesmo tratamento foi dado aos animais com resultados sorológicos inconclusivos.

O planejamento amostral permitiu determinar as prevalências de focos e de fêmeas adultas (≥ 24 meses) soropositivas para brucelose no Estado e nos circuitos produtores. Os cálculos das prevalências aparentes e os respectivos intervalos de confiança foram realizados com o auxílio do programa EpiInfo 6.04 (DEAN et al., 1994). Os cálculos das prevalências de focos e de animais no Estado, e das prevalências de animais dentro das regiões foram feitos de forma ponderada, conforme preconizado por Dohoo et al. (2003).

O peso de cada propriedade no cálculo da prevalência de focos no Estado foi dado por

(1)

$$P_1 = \frac{\textit{propriedades na região}}{\textit{propriedades amostradas na região}}$$

O peso de cada animal no cálculo da prevalência de animais no Estado foi dado por

(2)

$$P_2 = \frac{\textit{fêmeas} \geq 24 \textit{ meses na propriedade}}{\textit{fêmeas} \geq \textit{meses amostradas na propriedade}} * \frac{\textit{fêmeas} \geq 24 \textit{ meses na região}}{\textit{fêmeas} \geq 24 \textit{ meses nas propriedades amostradas na região}}$$

Na expressão acima, o primeiro termo refere-se ao peso de cada animal no cálculo da prevalência de animais dentro de região.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A divisão do Estado da Paraíba em três circuitos produtores é mostrada na Fig.1. Na Tab. 1, são mostrados os dados censitários da amostra estudada em cada um dos circuitos produtores.

Figura 1- Mapa do Estado da Paraíba com a divisão em circuitos produtores.

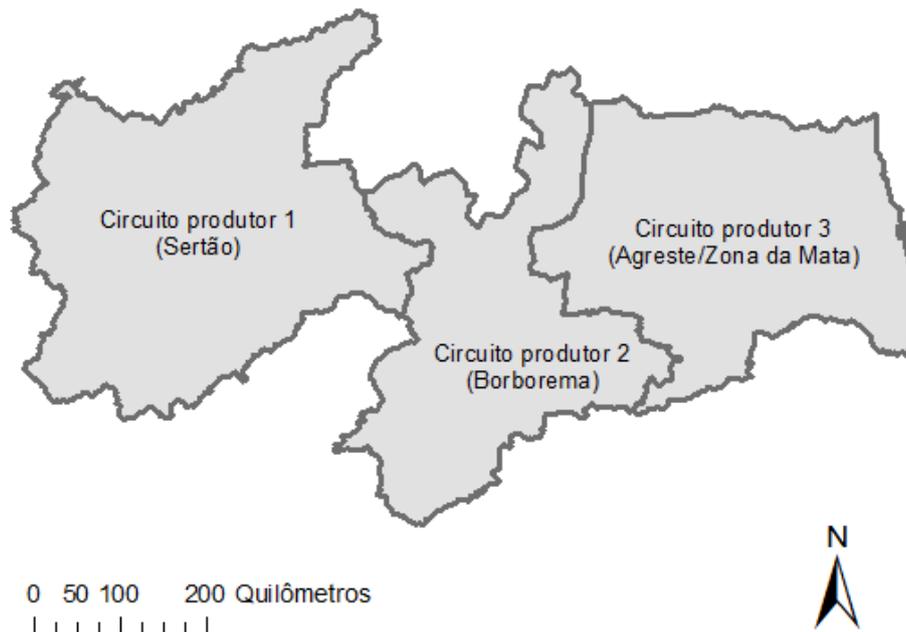


Tabela 1- Dados censitários da população bovina do Estado da Paraíba em 2012, segundo o circuito produtor.

Circuito produtor	Propriedades com atividade reprodutiva		Fêmeas com idade \geq 24 meses	
	Total	Amostradas	Total	Amostradas
1	24.356	219	288.764	1.337
2	11.603	227	83.428	1.060
3	18.398	228	192.320	1.092
Estado	54.357	674	564.512	3.489

Os resultados de prevalência de focos de brucelose bovina no Estado da Paraíba e nos circuitos produtores estão apresentados na Tabela 2. A prevalência de focos, por tipo de exploração da propriedade, é mostrada na Tabela 3 e a prevalência de animais sororreagentes para brucelose bovina está na Tabela 4.

Tabela 2- Prevalência de focos de brucelose bovina, segundo o circuito produtor, no Estado da Paraíba.

Circuito produtor	Propriedades		Prevalência (%)	IC 95%
	Testadas	Positivas		
1	219	7	3,2	[1,5 - 6,6]
2	227	5	2,2	[0,9 - 5,2]
3	228	18	7,9	[5,0 - 12,2]
Estado	674	30	4,6	[3,2 - 6,5]

IC: Intervalo de confiança.

Tabela 3- Prevalência de focos de brucelose bovina estratificada pelo tipo de exploração, segundo o circuito produtor, no Estado da Paraíba.

Circuito produtor	Tipo de exploração					
	Corte		Leite		Mista	
	Prev (%)	IC 95%	Prev (%)	IC 95%	Prev (%)	IC 95%
1	0	[0 - 33,6]	2,4	[0,3 -15,5]	3,6	[1,6 - 7,7]
2	0	[0 - 13,2]	5,5	[2,1 -13,8]	0	[0 - 2,9]
3	12,0	[5,5 - 24,3]	6,7	[2,8 -15,1]	6,8	[3,3 - 13,6]

IC: Intervalo de confiança.

Prev: Prevalência.

Tabela 4- Prevalência de bovinos sororreagentes para brucelose, segundo o circuito produtor, no Estado da Paraíba.

Circuito produtor	Animais		Prevalência (%)	IC 95%
	Testados	Positivos		
1	1.337	11	1,7	[0,5 - 5,7]
2	1.060	8	0,7	[0,3 - 1,7]
3	1.092	24	3,2	[1,6 - 6,3]
Estado	3.489	43	2,0	[1,1 - 3,9]

IC: Intervalo de confiança.

A prevalência de focos (Tab. 2) de brucelose no Estado da Paraíba foi de 4,6% (IC 95% = 3,2% - 6,5%), sendo a maior prevalência observada no circuito produtor 3 (7,9%; IC 95% = 5,0% - 12,2%), com resultado estatisticamente diferente do circuito produtor 2 (2,2%; IC 95% = 1,5% - 6,6%). Com relação ao tipo de exploração da propriedade (Tab. 3), a maior prevalência de focos foi observada em rebanhos do tipo corte do circuito 3 sem, contudo, haver diferença significativa entre os tipos de exploração. O circuito produtor 3 (Agreste/Mata) representa uma região em que há grande fluxo de animais que ingressam no Estado para participarem de uma grande feira semanal de animais, no município de Campina Grande, o que poderia justificar essa alta prevalência em comparação aos demais circuitos.

A prevalência de animais soropositivos para a brucelose bovina no Estado da Paraíba de 2,0% [1,1% - 3,9%] (Tab. 4) foi superior à frequência de 0,8% de animais soropositivos citada no levantamento oficial realizado em 1975 (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003), e às frequências referidas por Leite et al. (2003) e Figueiredo et al. (2011) (0,34% e 0,36%, respectivamente). Esta elevação da prevalência de animais soropositivos para brucelose bovina pode dever-se a ausência de um programa efetivo de controle desta doença no Estado da Paraíba e aquisição de reprodutores bovinos oriundos de outras regiões do país sem a realização de teste de brucelose. Além disso, só a partir de 2008 é que o Estado da Paraíba iniciou efetivamente o programa de vacinação contra brucelose bovina (PARAÍBA, 2008), no entanto, a cobertura vacinal no período de 2008 a 2012 manteve-se abaixo de 30% (FIGUEIREDO et al., 2011). Deve-se destacar que a amostragem dos estudos anteriores realizados na Paraíba não foi planejada seguindo os moldes dos estudos do PNCEBT (POESTER et al., 2009).

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, recomenda-se concentrar esforços para vacinar, todos os anos, um mínimo de 80% das bezerras entre três e oito meses de idade com a amostra B19 e estimular a vacinação de fêmeas com idade superior a 8 meses com a RB51, desde que não vacinadas com a B19. Além disso, deve-se estimular a realização de testes nas fêmeas de reprodução antes de introduzi-las no rebanho.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3 ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2003.
- ALTON, G. G. et al. **Techniques for the brucellosis laboratory**. Paris: Institut National de La Recherche A, 1988.
- ALVES, A. J. S. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Bahia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootécnia**. v.61, suppl.1, p.6-13, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a10v61s1.pdf>>. Acesso em: 29 mai. 2015.
- ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S.; SANTOS, F. A. Aspectos epidemiológicos da brucelose bovina na microrregião de Pombal, Paraíba. **Agropecuária Técnica**, Areia, v.24, n.2, p.147-152, 2003.
- AZEVEDO, S. S. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Espírito Santo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.61, suppl.1, p.19-26, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a04v61s1.pdf>>. Acesso em: 29 mai. 2015.
- BANDEIRA, K. K. **Brucelose Bovina**. 2011. 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia)- Faculdade de Ciências Biológicas e de Saúde, Universidade Tuiuti do Paraná, Cascavel, 2011.
- BERNUÉS, A.; MANRIQUE, E.; MAZA, M. T. Economic evaluation of bovine brucellosis and tuberculosis eradication programmes in a mountain area of Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v.30, p.137-149, 1997.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Defesa Animal. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT)**. Brasília, 2001. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/sda/dda/inicial.htm>>. Acesso em: 12 jun. 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Defesa Animal. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) – Manual técnico**. Brasília, 2004a.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Defesa Animal. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) – Manual técnico**. Brasília, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Defesa Animal. Portaria n.º 11, de 26 de janeiro de 2004. **Excluir o Estado de Santa Catarina da obrigatoriedade de vacinação das fêmeas bovinas e bubalinas contra a brucelose**. Diário Oficial da União, Brasília, 29 jan. 2004b Sec. 1, p.3.

CAMPERO, C. M. Brucelosis en toros: una revisión. **Revista de Medicina Veterinária**, v. 74, p.8-14, 1993.

CASTRO, A. C.; GONZÁLEZ, R. S.; PRAT, I. M. Brucellosis: uma revision practica. **Acta Bioquímica Clínica Latino Americana**, v.39, p.203-216, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.org.ar/pdf/abcl/v39n2/v39n2a08.pdf>>. Acesso em: 01 jun. 2015.

CHATE, S. C. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Mato Grosso do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2009, v.61, supl. 1, p.46-55. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a07v61s1.pdf>>. Acesso em: 29 mai. 2015.

CORBEL, M. J.; ELBERG, S. S.; COSIVI, O. **Brucellosis in humans and animals**. Geneva: WHO Press, 2006.

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

DEAN, A. G.; DEAN, J. A.; COLOMBIER, D. et al. **Epi-Info, version 6: A word processing database and statistics program for epidemiology on microcomputers**. Atlanta: CDC, 1994.

DIAS, J. A. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Paraná. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2009, v.61, suppl.1, p.66-76. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a09v61s1.pdf>>. Acesso em: 29 mai. 2015.

DIAS, R. A. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2009, v.61, suppl.1, p.118-125. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a15v61s1.pdf>>. Acesso em: 29 mai. 2015.

DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. **Veterinary epidemiologic research**. Charlottetown: Atlantic Veterinary College, 2003.

FLETCHER, R. H.; FLETCHER, S. W.; WAGNER, E. H. **Clinical epidemiology: The essentials**. 2 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998.

FIGUEIREDO, S. M.; ROCHA, V. C. M.; HIGINO, S. S. S. et al. Brucelose bovina no estado da Paraíba: estudo retrospectivo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.1, p.9-16, 2011.

GARCIA-CARRILLO, C. **La Brucelosis de los animales en America y su relacion con La infección humana**. Paris: Office International des Epizooties, 1987.

GODFROID, J.; CLOECKAERT, A.; LIAUTARD, J. P. et al. From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. **Veterinary Research**, v.36, p.313-326, 2005.

GODFROID, J.; KÄSBOHRER, A. Brucellosis in the European Union and Norway at the turn of the twenty-first century. **Veterinary Microbiology**, v.90, p.135-145, 2002.

GONCALVES, V. S. P. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Distrito Federal. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**. 2009a, v.61, suppl.1, p.14-18. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a03v61s1.pdf>>. Acesso em: 29 mai. 2015.

GONCALVES, V.S.P. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2009b, v.61, suppl.1, p.35-45. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a06v61s1.pdf>>. Acesso em: 29 mai. 2014.

GONZÁLEZ, R. A.; GONZÁLES-REYES, I.; FLORES-GUTIÉRREZ, G. H. Prevalence of *Brucella abortus* antibodies in equines of a tropical region of México. **Canadian Journal of Veterinary Research**. v.70, p.302-304, 2006.

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

HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Veterinary Microbiology**. United States of America: Blackwall Science, 1999.

KLEIN-GUNNEWIEK, M. F. C. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Rio de Janeiro. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**. 2009, v.61, suppl.1, p.77-84. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a10v61s1.pdf>>. Acesso em: 29 mai. 2015.

LEITE, R. M. H.; THOMPSON, J. A.; GONÇALVES, V. S. P. et al. A random sample survey of bovine brucellosis in the State of Paraíba, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v.40, suppl. 3, p.170-174, 2003.

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

MARVULO, M. F. V. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2009, v.61, suppl.1, p.93-102. Disponível em: <http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/12381/1/ARTIGO_SituacaoEpidemiologicaBruceloseRS.pdf>. Acesso em: 29 mai. 2015.

MIRANDA, K. L. et al. Quem ganha com a certificação de propriedades livres ou monitoradas pelo PNCEBT?. **Leite Integral**, v.3, p.44-55, 2008

NEGREIROS, R. L. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Mato Grosso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2009, v.61, suppl.1, p.56-65. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a08v61s1.pdf>>. Acesso em: 29 mai. 2015.

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

NICOLETTI P. Bovine abortion caused by *Brucella* sp. In: KIRKBRIDE, C.A. (Org.). **Laboratory Diagnosis of Livestock Abortion**. 3 ed. Ames: Iowa State University Press, 1990. p.22-26.

NIELSEN, K. Diagnosis of brucellosis by serology. **Veterinary Microbiology**, v.90, p.447-459, 2002.

OGATA, R. A. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Tocantins. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2009, v.61, suppl.1, p.126-134. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a16v61s1.pdf>>. Acesso em: 29 mai. 2015.

OIE - OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. **Terrestrial animal healthcode**, 2005. 14 ed. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_sommaire.htm>. Acesso em: 01 de junho de 2015.

OLIVEIRA, R. M.; SILVA, M. L. C. R.; MACÊDO, M. M. S. et al. Soroepidemiologia da leptospirose e brucelose bovina em propriedades rurais de agricultura familiar do agreste paraibano, Nordeste do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.80, n.3, p.303-311, 2013.

PARAIBA. Portaria nº 062, de 12 de maio de 2008. Dispõe sobre a obrigatoriedade da vacinação contra brucelose de fêmeas bovinas e bubalinas no Estado da Paraíba e dá outras providências. **Diário Oficial [do] Estado da Paraíba**, n. 13.805. João Pessoa: Poder Executivo, 2008.

PAULIN, L. M.; FERREIRA NETO, J. S. **A experiência brasileira no combate à brucelose bovina**. Jaboticabal: Funep. 2003.

PAULIN, L. M. S.; FERREIRA NETO, J. S. Artigo de revisão: brucelose em búfalos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, 2008, p.389-401. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v75_3/paulin.pdf>. Acesso em: 01 jun. 2015.

POESTER, F., et al. Estudos de prevalência da brucelose bovina no âmbito do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose: Introdução. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2009, v.61, supl. 1, p.1-5. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a01v61s1.pdf>>. Acesso em: 01 jun. 2015.

RADOSTITS, O. M. et al. **Clínica Veterinária: Um tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

ROCHA, W. V. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Goiás. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2009, v.61, suppl.1, p.27-34. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a05v61s1.pdf>>. Acesso em: 29 mai. 2015.

RUSSEL A. D.; YARNYCH, V. S.; KOULIKOVSKII, A. V. **Guidelines on disinfection in animal husbandry for prevention and control of zoonotic diseases**. Geneva: World Health Organization, 1984.

SAMARTINO, L. E.; ENRIGHT, F. M. Pathogenesis of abortion of bovine brucellosis. **Comparative Immunology Microbiology Infectious Diseases**. v.16, p.95-101, 1993.

SIKUSAWA, S. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Santa Catarina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2009, v.61, suppl.1, p.103-108. Disponível em: <http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/12428/1/ARTIGO_SituacaoEpidemiologicaBruceloseSC.pdf>. Acesso em: 29 mai. 2015.

SILVA, V. G. S. O. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Sergipe. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2009, v.61, suppl.1, p.109-117. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a14v61s1.pdf>>. Acesso em: 29 mai. 2015.

STRINGFELLOW D. A.; SEIDEL, S. M. **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 1999.

THOEN, C. O.; ENRIGHT, F.; CHEVILLE, N. F. *Brucella*. In: GYLES, C. L.; THOEN, C. O. (Org.). **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. 2 ed. Ames: Iowa State University Press, 1993. p. 236-247.

THRUSFIELD, M. **Veterinary epidemiology**. 3 ed. Oxford: Blackwell, 2007.

VILLAR, K. S. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Rondônia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2009, v.61, suppl.1, p.85-92. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61s1/a11v61s1.pdf>>. Acesso em: 29 mai. 2015.

WRAY, C. Survival and spread of pathogenic bacteria of veterinary importance within the environment. **Veterinary Bull**. v. 45, p. 543-550, 1975.