NAIRLÉIA DOS SANTOS SILVA

**Situação epidemiológica da brucelose bovina após a implementação do
programa de vacinação no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil**

São Paulo
2016

NAIRLÉIA DOS SANTOS SILVA

**Situação epidemiológica da brucelose bovina após a implementação do
programa de vacinação no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto

São Paulo

2016

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.3435
FMVZ

Silva, Nairléia dos Santos
Situação epidemiológica da brucelose bovina após a implementação do programa de
vacinação no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil / Nairléia dos Santos Silva. -- 2016.
53 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo,
2016.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto.

1. *Brucella abortus*. 2. Prevalência. 3. Fatores de risco. 4. Imunização bovina. I. Título.

CERTIFIED

We certify that the Research "Control of bovine brucellosis in the State of Rio Grande do Sul from 2005 to 2013", protocol number CEUAX 6481150615, under the responsibility José Soares Ferreira Neto, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Ethic Committee in the Use of Animals of School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo), and was approved in the meeting of day July 01, 2015.

Certificamos que o protocolo do Projeto de Pesquisa intitulado "Controle da brucelose bovina no Estado do Rio Grande do Sul DE 2005 ATÉ 2013", protocolado sob o CEUAX nº 6481150615, sob a responsabilidade de José Soares Ferreira Neto, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, e foi aprovado na reunião de 01 de julho de 2015.

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

São Paulo, 15 de dezembro de 2016

CEUA nº6481150615

Ao Senhor Professor

Doutor José Soares Ferreira Neto

Título da Proposta: “Situação epidemiológica da brucelose bovina após a implementação do programa de vacinação no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil”.

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais da FMVZ/USP.

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Alteração de Cadastro (versão 15/dezembro/2016) da proposta acima referenciada.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: SILVA, Nairléia dos Santos

Título: **Situação epidemiológica da brucelose bovina após a implementação do programa de vacinação no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciência

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Dedico

A todos aquellos inocentes mortos para alimentar vivos pecadores

Agradeco

A minha família: Francisco Antonio da Silva (pai), Neuza Maria Leal dos Santos Silva (mãe), Leidy Silva (irmã), Henrique Silva (irmão), Precioso, Paul, Lilica, Cely, Babinha, Mel, Mufasa (cães e gatos).

Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto, por sua orientação, paciência e exemplo profissional.

Prof. Dr. Fernando Ferreira, Prof. Dr. José Henrique Hildebrand Grisi-Filho e Prof. Dr. Marcos Bryan Heinemann pelas contribuições no trabalho.

Prof^a. Dr^a. Eugênia Marcia de Deus Oliveira, pelo exemplo de vida e amizade (*in memoriam*).

Todos os professores e professoras do programa de Epidemiologia aplicada às Zoonoses, especialmente ao Prof. Dr. Nilson Benites, Ricardo Dias Lara Keid.

Aos amigos e profissionais do Laboratório de Zoonoses Bacterianas: Zenaide Maria de Moraes Higa, Gisele Oliveira, Cassia Y. Ikuta, Saulo Machado, Nicolas Cespedes, Amane Gonçalves, Viviane Cambuí, Carolina Américo, Israel Guedes, Karina Baungartem, Eleine Anzai, Antônio Souza Filho, Juliana Aizawa, Danúbia.

Todos os funcionários e funcionárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, especialmente Danival Lopes, Cristina Paick, Renato Caravieri, Antonio (Cabelo), Washington Carlos Agostinho, Pedro C. Ferreira da

Silva, Márcio Chiacchio, Priscila Benites, Sheila Oliveira, Carol e Cláudia.

Prof^a. Dr^a. Alessandra Estrela da Silva, pelo apoio, incentivo à carreira acadêmica e principalmente amizade.

Todos os professores e professoras, funcionários e funcionárias da Faculdade Medicina Veterinária da UFBA.

Msc. Hildete Leal (tia), uma das pessoas mais importantes, talvez a mais importante e responsável por ter, com o seu exemplo de vida, me motivado a buscar sempre a educação como instrumento de mobilidade cultural e social! Se não fosse guiada pelos seus passos, certamente teria me perdido no caminho!

Professora Rita Nádia, minha primeira professora, que não só me alfabetizou, mas também cuidou amorosamente nos primeiros passos de aprendiz da vida. Aqui estou, sempre na busca de conhecer a maneira certa de viver nesse mundo errado. Obrigada Ri!

Professora e amiga Luciene Rocha, a minha segunda professora, eu agradeço e parablenizo por todo carinho e amor pela missão impar de lecionar!

Aos amigos USPianos: Danilo Saraiva (*in memorim*), Sílvia Godoy, Thiago Martins, Vanessa Miranda, Gi Fournier, Ronaldo Coelho, Amália Barbieri, Eveline Zuninga, Karinne Marques, Marcos Gomes, Herbert Soares, Francisco Borges, Andréa Borges, Jairo Roldan, Vasco Túlio, Barbara Costa, Ketrin, Mariana Ramos Qieiroz, Felipe Krawczak, Vanessa Abaquim, Carlos Cabrera, Jason Onill, Isabella Fontana, Camila Marinelli, Anaiá Sevá, Aline Gil, Igor Acosta, Diego Garcia

Ramires, Markelly Fonsseca, Rafael Guimarães, Bruno Kawano, Zé Roberto, Barbara Tavares Shafer, Juliana Queiroz, Teubislete Borges, Marco Teixeira Junior, Daniel Souza Silva, Roberto Parente, Antonio Cícero, Lázaro Rocha Oliveira e Aline Morgado, Vanderson Souza, Celso Borzani, Will dos Santos, obrigada pelos bons momentos vividos na USP, sem vocês a minha permanência em São Paulo seria muito mais difícil!

Aos amigos da UFBAianos: Lorena Rocha, Virgínia Vidas, Natália Luchi, Maria da Graça Ávila, Sônia Laborda, Iracema Nunes de Barros, Priscila Damasceno, Everaldo Moraes, Margot Neres, Thiago Sampaio, Vanessa Reis, Karine Damasceno, Carlos Humberto Vieira Filho, Clarissa Lopes, Gustavo Rodamilans, Marcia Farias, Eliandra Fiuza, Luana Machado, Davi Vilasboas, saudades de todos vocês e dos bons tempos de faculdade.

Aos meus queridíssimos amigos: Marcia Cristina Faria obrigada pela irmandade; Douglas Brech grata pela amizade incondicional; Adriano Barros grata pela parceria e amizade; Luis Miguel dos Santos grata pela irmandade e sintonia, mesmo estando em outro continente; Jeff Fournier e Valter Paccini pelos risos e amizade; Wania Coelho pelo carinho; Gisele de Souza, Bruna de Souza e Dona Nílce pela atenção, cuidados e amizade; Coriolando Bahia e Conceição Bahia pelo amor e amizade; Eduardo Reale pela longa e eterna; Eduardo Pacheco, Chris Silva e Beatiz Silva pela parceria na causa animal; aos novos amigos do JX.

"Todos os argumentos para provar a superioridade do homem não podem quebrar essa dura realidade: no sofrimento, os animais são nossos iguais"

Peter Singer

RESUMO

SILVA, N. S. **Situação epidemiológica da brucelose bovina após a implementação do programa de vacinação no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.** [Epidemiological situation of bovine brucellosis after implementation of a vaccination program in Rio Grande do Sul State, Brazil]. 2017. 53 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

O estudo objetivou avaliar a eficácia do programa de vacinação contra brucelose bovina no estado do Rio Grande do Sul tendo como indicador a prevalência e individualizar os fatores de risco para a doença. O Estado foi dividido em sete regiões. Para cada região foram amostradas aleatoriamente um número preestabelecido de propriedades nas quais foi testado um número também preestabelecido de fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses, aleatoriamente selecionadas. O protocolo do sorodiagnóstico foi composto de triagem com o teste do antígeno acidificado tamponado, seguido de teste confirmatório dos sororreagentes com o teste 2-Mercaptoetanol. Nas propriedades foi aplicado um questionário epidemiológico sobre possíveis fatores de riscos associados à brucelose bovina. No estado do Rio Grande do Sul, a prevalência de focos foi de 3,54% [2,49 – 4,88] e a de animais 0,98% [0,57 – 1,57]. Nas regiões, as prevalências de focos variaram de 0,66% a 9,03% e a de animais de 0,06% a 2,03%. Rebanhos com 15 ou mais vacas, tipologia corte e compartilhamento de pastagens emergiram como fatores de risco para brucelose bovina no estado. A situação epidemiológica da brucelose bovina no Rio Grande do Sul manteve-se estável desde 2004, a despeito de boas coberturas vacinais terem sido registradas a partir de 2009. Assim, o estado deve continuar seu programa de vacinação, dando ênfase para a qualidade do processo e estimulando a utilização da vacina não indutora de anticorpos. Adicionalmente, o estado deve realizar um grande esforço de educação para que os produtores testem os animais de reprodução para brucelose antes de introduzi-los em suas propriedades e evitem o compartilhamento de pastagens entre rebanhos de condição sanitária desconhecida.

Palavras-chave: *Brucella abortus*. Prevalência. Fatores de risco. Imunização bovina.

ABSTRACT

SILVA, N. S. **Epidemiological situation of bovine brucellosis after implementation of a vaccination program in Rio Grande do Sul State, Brazil.** [Situação epidemiológica da brucelose bovina após a implementação do programa de vacinação no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil]. 2017. 53 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

This study aimed to evaluate the effectiveness of a bovine brucellosis vaccination program in Rio Grande do Sul, with prevalence as the indicator, and to identify risk factors for the disease. The state was divided into seven regions. For each region, a predetermined number of properties were randomly sampled, in which a pre-established number of randomly selected females aged over 24 months were tested. The serodiagnosis protocol consisted of a screening test using buffered acidified antigen, followed by a confirmatory test using 2-mercaptoethanol. An epidemiological questionnaire was utilized to identify possible risk factors associated with bovine brucellosis. In the state of Rio Grande do Sul, the prevalence of infected herds was found to be 3.54% [2.49-4.88], and the prevalence of infected animals was 0.98% [0.57-1.57]. In assessments of specific regions, the infected herd prevalence ranged from 0.66% to 3.09%, and among the animals, from 0.06% to 2.03%. In herds comprising 15 or more cows, beef type and pasture sharing emerged as risk factors for bovine brucellosis in the state. The epidemiological status of bovine brucellosis in Rio Grande do Sul has remained unchanged since 2004, even though adequate vaccination coverage has been recorded since 2009. Thus, the state should continue its vaccination program, with emphasis on the quality of the process and on encouraging the use of non-antibody inducing vaccines. In addition, the state must make a greater effort to educate producers on the importance of testing for brucellosis in breeding animals before introducing them onto their properties, and on the importance of avoiding shared grazing among herds whose health conditions are unknown.

Keywords: *Brucella abortus*. Prevalence. Risk factors. Bovine immunization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Taxa de vacinação anual de bezerras com a B19 no Estado do Rio Grande do Sul.....	19
Figura 2 -	Mapa do Estado do Rio Grande do Sul com a divisão em regiões.....	36
Figura 3 -	Comparação das prevalências de animais e de focos para brucelose bovina entre o presente estudo (2013) e o realizado em 2004 no Estado do Rio Grande d Sul.....	38

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Dados censitários e da amostra do Estado do Rio Grande do Sul, 2013.....	36
Quadro 2 -	Prevalência de focos e de animais para brucelose bovina no Estado do Rio Grande do Sul, 2013.....	37
Quadro 3 -	Prevalência de focos de brucelose bovina nas regiões do Estado do Rio Grande do Sul, segundo a tipologia da unidade produtiva, 2013.....	37
Quadro 4 -	Resultados da análise univariada dos possíveis fatores de risco para brucelose bovina ($p < 0,20$) no Estado do Rio Grande do Sul, 2013.....	39
Quadro 5 -	Modelo final de regressão logística múltipla de fatores de risco (odds ratio) para brucelose bovina em rebanhos com atividade reprodutiva no Estado do Rio Grande do Sul.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

2ME	2 mercaptoetanol
AAT	Antígeno Acidificado Tamponado
DAS –	Defesa Sanitária Animal
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
IC 95%	Intervalo de confiança de 95%
LANAGRO	Laboratório Nacional Agropecuário
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mL	Mililitro
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal, do inglês <i>World Organization for Animal Health</i>
OR	Razão de chances, do inglês <i>odds ratio</i>
p	Probabilidade de ocorrência ao acaso
P	Prevalência
PNCEBT	Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose
Q	Teste Q
SALT	Soroaglutinação lenta em tubos
USP	Universidade de São Paulo
VPS	Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS.....	20
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
3.1	O ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL E A BOVINOCULTURA.....	21
3.2	A BRUCELOSE BOVINA NO RIO GRANDE DO SUL	23
3.3	A HISTÓRIA DO COMBATE A BRUCELOSE BOVINA NO RIO GRANDE DO SUL.....	24
3.4	A BRUCELOSE BOVINA.....	25
3.5	SINAIS CLÍNICOS DA BRUCELOSE BOVINA	25
3.6	A TRANSMISSÃO DA BRUCELOSE BOVINA.....	25
3.7	O DIAGNÓSTICO.....	26
3.7.1	Teste do antígeno acidificado tamponado.....	27
3.7.2	Teste do anel do leite.....	27
3.7.3	Teste do 2 mercaptoetal.....	27
3.7.4	Teste de fixação do complemento.....	28
3.8	O CONTROLE DA BRUCELOSE BOVINA.....	28
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1	ESTRATIFICAÇÃO DO TERRITÓRIO.....	30
4.2	DELINEAMENTO AMOSTRAL.....	30
4.3	OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS.....	31
4.3	DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO.....	32
4.5	ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA.....	32
5	RESULTADOS	35
6	DISCUSSÃO.....	41
7	CONCLUSÕES.....	44
8	AGRADECIMENTOS.....	45
	REFERÊNCIAS.....	46

1 INTRODUÇÃO

O território do Rio Grande do Sul possui dois biomas em sua fitofisionomia espacial, a Mata Atlântica (37% do território estadual) e o Pampa (63% do território estadual). O primeiro bioma marca presença não só no território gaúcho, mas em boa parte dos estados brasileiros, especificamente 17 unidades federativas. Já o Pampa é um bioma peculiar ao Rio Grande do Sul. Apresentando assim uma fauna e flora endêmica ao extremo sul do Brasil (GALVANI; BAPTISTA, 2003; ZANIRATO, 2010; BRASIL, 2016b).

O Rio Grande do Sul é nono estado brasileiro em extensão territorial abrangendo 281.731,445 km² (IBGE, 2010). A ocupação da região ocorreu sob várias disputas entre seus vizinhos platinos do Uruguai, Argentina e Paraguai. Os gaúchos foram se espalhando pelos campos juntamente com o gado e o Sul do Brasil foi sendo assim ocupado com a bovinocultura desempenhando, desde o início, um papel fundamental na formação socioeconômica do Estado. Atualmente, o Rio Grande do Sul tem um rebanho de 14 milhões de bovinos, sendo o sexto maior rebanho do Brasil e o maior da Região Sul (IBGE, 2013).

O agronegócio, especificamente a bovinocultura, é um setor que tem destaque na economia não apenas do Rio Grande do Sul, mas no país, que a cada ano consolida sua posição de liderança no comércio internacional de carnes. Neste cenário, a brucelose bovina, uma doença causadora de prejuízos econômicos e com caráter zoonótico, torna-se um obstáculo para o desenvolvimento da cadeia produtiva bovina e pode trazer barreiras para o comércio internacional de animais e produtos (PAULIN; FERREIRA NETO, 2002; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

Por tais motivos o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) criou em 2001 o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT). Trata-se de medidas alinhadas com as recomendações da OIE (Organização Mundial da Saúde Animal) e suficientemente flexíveis a ponto de permitir a implementação nas heterogêneas regiões do Brasil (LAGE et al., 2006; POESTER et al., 2009).

Desde a criação do PNCEBT estudos epidemiológicos padronizados foram realizados em 18 Unidades Federativas, mostrando prevalências de focos entre 0,32% em Santa Catarina e 41,5% em Mato Grosso do Sul (ALVES et al., 2009; AZEVEDO et al., 2009; CHATE et al., 2009; DIAS et al., 2009a; DIAS et al., 2009b; GONÇALVES et al., 2009a; GONÇALVES et al., 2009b; KLEIN-GUNNEWIEK et al., 2009; MARVULO et al., 2009; NEGREIROS et al., 2009; OGATA et al., 2009; ROCHA et al., 2009; SIKUSAWA et al., 2009; SILVA et al., 2009; VILLAR et al., 2009; BORBA et al., 2013; ALMEIDA et al., 2016; CLEMENTINO et al., 2016). O estudo no Rio Grande do Sul foi realizado em 2004, mostrando 2,06% [1,50-2,63] de prevalência de focos e 1,02% [0,60-1,43] de prevalência de animais (MARVULO et al., 2009). Na ocasião foi recomendado ao estado que implementasse um programa de vacinação para as regiões 1, 2, 3 (sul) e 7 (litoral norte), com prevalências mais elevadas, e considerasse a possibilidade de implementar estratégias de erradicação nas regiões 4, 5 e 6, com prevalências muito baixas.

O estado optou por implementar um programa de vacinação em todo o seu território, buscando a homogeneização da situação sanitária entre essas duas zonas de alta e baixa prevalência. No Rio Grande do Sul, a imunização de bezerras com a B19 é obrigatória desde 1965, mas só após 2006, o atestado de vacinação passou a ser vinculado a emissão da Guia de Transito Animal (GTA). O estado conseguiu atingir uma boa cobertura vacinal a partir de 2009 (Figura 1).

Figura 1 - Taxa de vacinação anual de bezerras com a B19 no Estado do Rio Grande do Sul.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a situação epidemiológica da brucelose bovina após a implementação do programa de vacinação no Estado do Rio Grande do Sul.

2.2 ESPECÍFICO

- Pesquisar animais sororreagentes contra *Brucella abortus*;
- Determinar a prevalência de propriedades positivas (focos) para brucelose bovina no Estado do Rio Grande do Sul;
- Determinar a prevalência de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses para brucelose bovina no Estado do Rio Grande do Sul;
- Identificar os fatores de risco para brucelose bovina no Estado do Rio Grande do Sul;
- Comparar os dados soroepidemiológicos do ano 2004 com o ano de 2013;
- Avaliar o programa de vacinação implementado no Estado do Rio Grande do Sul;
- Sugerir intervenções e medidas de controle com base nos resultados obtidos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL E A BOVINOCULTURA

A ocupação do Rio Grande do Sul está diretamente ligada ao gado introduzido na região pelos padres jesuítas espanhóis. O Tratado de Tordesilhas, assinado em 1494, garantia à Espanha a exploração das terras gaúchas, o que levou os padres a fixarem-se na atual região das Missões e catequizar os índios locais. Eles trouxeram animais e sementes, e devido ao bom clima formaram pastagens, assim os bovinos trazidos procriaram-se rapidamente. No entanto a fuga desses animais para regiões distantes era comum, dando origem a um numeroso rebanho de vida errante, sem dono e semisselvagem (MARION FILHO; REICHERT; SHUMACHER, 2016).

Com o crescimento da mineração no Brasil, especialmente em Minas Gerais, o preço do gado aumentou tanto que levou os paulistas a buscarem esses animais no extremo sul do país. Os ganhos econômicos advindos da venda dos animais despertaram o interesse da Coroa pela região e motivou várias batalhas que levaram a expulsão dos espanhóis e permitiu ao governo português fixar uma colônia no sul (PRADO JÚNIOR, 1973).

Por fazer fronteira com três países de domínios espanhóis, Argentina, Uruguai e Paraguai, o território austral brasileiro desempenhou dois papéis importantes desde o início de sua ocupação. O primeiro, exposto anteriormente, foi devido a localização estratégica que garantia a presença portuguesa junto às áreas de colonização espanhola. O segundo, mas não menos importante, foi o de fornecer alimentos e outros bens para as demais regiões do Brasil.

Assim, presença do gado foi um dos principais motivos para a ocupação e fixação de portugueses em solo gaúcho. A Coroa garantia aos primeiro imigrantes, principalmente os açorianos, apenas uma pequena propriedade de terra. Pois era

interesse de Portugal povoar seus domínios para impedir a dominação das novas terras portuguesas por outras nacionalidades. Porém, sua sobrevivência era por conta desses novos habitantes. Assim, em 1770 uma leva de imigrantes açorianos chegou à província para povoar a região das Missões, visto que está já possuía um grande rebanho de gado ainda sem dono que passaria a ser explorado pelos imigrantes (LUVIZOTTO, 2010).

Devido às dificuldades de transporte até a região das Missões, esses grupos açorianos acabaram fixando-se na atual região Metropolitana, aos arredores da cidade de Porto Alegre. Lá mantiveram práticas agropecuárias, mantendo uma economia voltada principalmente para a pecuária, produzindo principalmente leite, mas também carne e couro (Luvizotto, 2010).

A produção de leite e de seus derivados para fins comerciais começou com os açorianos e recebeu grande impulso com a imigração dos demais europeus, especialmente de alemães e italianos, que se localizaram mais ao norte e região serrana do Estado gaúcho. Com o surgimento de vilas, o leite e seus derivados tiveram maior importância econômica, especialmente nas regiões de pequenas propriedades, onde a subsistência das famílias dependia de uma atividade econômica diversificada (MOURION FILHO, 2016).

Outra estratégia de ocupação portuguesa na instável e belicosa região sulina do Brasil foi a doação de sesmarias, habito político já costume de Portugal. As terras mais aos Sul e Oeste do Estado gaúcho foram doadas em grandes extensões, principalmente aos militares que se destacaram em combate. Essa classe de militares foi a origem da aristocracia rural gaúcha, que passa a ser conhecida posteriormente como estancieiros. Estes eram criadores de gado de corte, produtores de charque e couro curtido. Devido a essa atividade, suas fazendas eram também conhecidas como charqueadas (MORAES, 1959).

Após o decorrido, percebe-se que a criação de gado bovino no Rio Grande do Sul se fez presente antes mesmo de ser território brasileiro. Evidenciando a importância da bovinocultura para a economia gaúcha desde os primórdios. Além do já ponderado anteriormente, a Coroa percebeu a chance de aumentar a arrecadação de impostos com o incremento do comércio destes animais.

Essa possibilidade levou as autoridades portuguesas a se preocuparem com a melhoria nas condições de transporte e consequentemente com a construção de novas estradas através do continente. Por tanto, no ano de 1732 foi concluída a primeira estrada ligando a Capitania de São Pedro do Rio Grande do Sul ao atual Estado de São Paulo, facilitando também a imigração e ocupação do sul do Brasil (MORAES, 1959).

3.2 A BRUCELOSE BOVINA NO RIO GRANDE DO SUL

A história da brucelose bovina no Brasil está coincidentemente ligada a história da brucelose bovina no Rio Grande do Sul, pois o primeiro relato dessa doença no Brasil foi feita no Estado gaúcho. Tal fato se deu em 1914, quando o Dr. Danton Seixas fez o primeiro diagnóstico clínico de brucelose em bovinos do Rio Grande do Sul (BOLETIM, 1988; PAULIN; FERREIRA NETO, 2002).

Após alguns anos, em 1936, o Dr. Desidério Finamor fez o segundo diagnóstico sorológico de brucelose em bovinos no Brasil e o primeiro diagnóstico sorológico dessa doença no Estado do Rio Grande do Sul. Na ocasião, ele também propôs o primeiro plano para combater a brucelose bovina no Rio Grande do Sul (BOLETIM, 1988; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

Uma pesquisa para verificar a disseminação da brucelose bovina em alguns Estados brasileiros foi realizada pela primeira vez por Thiago de Mello, em 1950. E mais uma vez o Rio Grande do Sul figurou um papel de destaque na história, pois a região leiteira, tradicionalmente localizada no Norte e Noroeste do Estado, foi apontada juntamente com São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais, com prevalências elevadas, variaram entre 10% a 20%. (GARCIA-CARRILLO, 1987).

Em 1951, Caldas e Ribeiro também encontraram uma elevada prevalência de 8,2% no Estado. A partir de 1975, outros estudos de âmbito nacional foram realizados. Assim em um estudo feito em 1975 e publicado em 1977 o Rio Grande do Sul apresentava uma prevalência de 2,0%, em 1986, foi publicado um estudo em

que a prevalência no Estado tinha reduzido para 0,3% (BOLETIM, 1988; GARCIA-CARRILLO, 1987; BRASIL, 2001; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

3.3 A HISTÓRIA DO COMBATE A BRUCELOSE BOVINA NO RIO GRANDE DO SUL

Passados cinco anos que o Dr. Desidério Finamor sugeriu um plano de combate, em 1941 foram aprovados no Estado os Decretos de Lei Nº 276 e Número 276A em que regulamentavam a entrada de reprodutores importados e regulamentavam a admissão de animais em exposições e feiras no Estado do Rio Grande Do Sul. Em 1949, o Instituto de Pesquisas veterinárias Desidério Finamor, iniciou a produção da vacina B19, e as aplicações das vacinas eram feitas pela Inspetoria Veterinária (POESTER, 2012).

O Rio Grande do Sul foi um dos Estado pioneiros na tentativa de combate a brucelose e em 1953, foi criado o serviço de erradicação da brucelose bovina e um plano de controle baseado na vacinação. Mas este foi prejudicado devido a produção insuficiente de vacinas pelo Estado. Assim em 1961, foram feitos esforços para a ampliação da produção de vacina B19, bem como a contratação de técnicos para o serviço veterinário. Mas só em 1964 foi instituída a Lei Nº 4890 de obrigatoriedade do combate à brucelose e em 1965, a admissão do Decreto de Lei Nº 17217 que aprovava o regulamento do serviço de combate à brucelose (POESTER, 2012).

Mas efetivamente o combate a brucelose no Rio Grande do Sul ganhou robustez apenas em 2001, com a criação do PNCEBT, pois foi quando o Estado passou a receber maiores investimentos do Governo Federal para implantação do programa de vacinação contra a brucelose bovina e a realização de inquérito sorológico em todo o território gaúcho (LAGE et al., 2006).

3.4 A BRUCELOSE BOVINA

O agente causador desta zoonose pertence ao gênero *Brucella*, sendo estas, bactérias intracelulares facultativas que infectam células do sistema mononuclear fagocitário. Dentre as espécies desse gênero, a *Brucella abortus* é a principal responsável por causar a brucelose bovina e também infecção em vários outros mamíferos, inclusive os silvestres (FERREIRA, 1990). Nos humanos, normalmente não afeta o sistema reprodutivo e os sintomas mais frequentes são febre, calafrios, suores noturnos, dores articulares, fadiga, anorexia e cefaleia (ACHA; SZYFRES, 2001; PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

3.5 OS SINAIS CLINICOS DA BRUCELOSE BOVINA

Os animais infectados por *B. abortus* apresentam manifestações tipicamente de curso crônico e relacionadas a problemas reprodutivos. Nas fêmeas os principais problemas observados são aborto, principalmente no terço final da gestação, natimortos, crias fracas, aumento de intervalo entre os partos e consequentemente baixa produção de leite e carne. Nos machos causa orquite e epididimite, esterilidade e problemas articulares como artrite e artrose (FERREIRA, 1990).

3.6 A TRANSMISSÃO DA BRUCELOSE BOVINA

O aborto ou os restos do parto de vacas infectados gera uma grande quantidade de bactérias eliminadas no ambiente, contaminando pastagens e aguadas. As bactérias podem permanecer viáveis nestes locais por longos períodos, dependendo de fatores como umidade e temperatura, facilitando que outros animais entrem em contato e se infectem. Os bezerros podem infectar-se ingerindo leite

contaminado ou pela via uterina. A via oral é a principal, no entanto as bactérias também podem entrar por mucosas do nariz, olhos e genitália (HIRSH e ZEE, 2003).

Segundo Crawford et al. (1990), existem dois grupos de fatores que influenciam a transmissão da brucelose: 1) fatores associados a relação entre rebanhos, entre os quais pode-se destacar a frequente aquisição de animais infectados em rebanhos livres da doença; a proximidade a rebanhos infectados, compartilhando pastos; cursos de água comum; sombreamento, baixa temperatura, que acabam fornecendo um ambiente favorável para a sobrevivência da bactéria; 2) fatores que influenciam a manutenção e disseminação da infecção dentro dos rebanhos, entre os quais pode-se citar o nível de vacinação do rebanho; o tamanho do rebanho; a densidade populacional; as condições de instalação (higiene e desinfecção de materiais) e o uso de piquete maternidade, que tem reduzido o nível de infecção, devido à diminuição de exposição de animais suscetíveis a materiais infectados.

3.7 O DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE BOVINA

O diagnóstico pode ser feito por meio da identificação da *B. abortus* por métodos diretos, ou pela detecção de anticorpos contra a bactéria por meio de métodos indiretos. Entre os métodos diretos pode-se citar: a) o isolamento e identificação do agente a partir do material de aborto, como feto, placenta, ou de secreções. No entanto, poucos laboratórios realizam esse exame devido ao perigo de contaminação humana; b) imunohistoquímica que pode ser feita com material de aborto, depois da fixação em formol, permitindo a visualização do tecido examinado e identificação do agente; e c) reação da polimerase em cadeia – PCR, que detecta um segmento de DNA específico da bactéria, em material de aborto, secreção ou excreção. De acordo com Paulin e Ferreira Neto (2003), os métodos sorológicos são os mais usados, já que são rápidos e de baixo custo.

Os testes oficiais de diagnóstico para a brucelose bovina são os testes de triagem Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e Teste do Anel em Leite (TAL) e

testes confirmatórios 2-Mercaptoetanol (2-ME) e Fixação do Complemento (FC) (BRASIL, 2006).

3.7.1 Teste Antígeno Acidificado Tamponado (AAT)

O teste de soroaglutinação é preparado com antígeno tamponado em pH ácido e corado com Rosa de Bengala. É uma prova de triagem do rebanho, portanto rápida e simples. É qualitativa, não indicando o título de anticorpos do soro testado. A leitura indica a presença ou ausência de IgG1, pode haver reação falso-positiva em animais vacinados com a B19 (BRASIL, 2006; PAULIN et al 2009).

3.7.2 Teste do Anel em Leite (TAL)

É utilizado não somente para detectar rebanhos infectados, como também para monitorar rebanhos leiteiros livres de brucelose. O teste é aplicado em misturas de leite de vários animais. A solução de antígeno é corado com hematoxilina, dando coloração azul para a reação positiva. O congelamento ou pasteurização da amostra podem ocasionar resultados falso-negativos, portanto estas amostras não devem ser utilizadas neste teste. Também podem apresentar resultados falso-positivos, leite ácido, leite recentemente coletado, leite contendo colostro, leite de vaca no período de secagem e leite de vacas com mamite. O resultado do teste pode ser influenciado pelo tamanho do rebanho, devendo-se aumentar a quantidade de leite a ser utilizada no teste, proporcional ao tamanho do rebanho (BRASIL 2006; BRASIL, 2009).

3.7.3 Teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME)

O teste 2-ME é uma prova quantitativa que detecta apenas a presença de IgG

no soro, essa imunoglobulina indica a presença de infecção crônica. É um teste que deve ser feito em paralelo com a prova lenta em tubos (SALT). Os resultados são interpretados pela diferença entre os títulos dos soros sem tratamento (prova lenta) frente ao soro tratado com 2-ME. Os resultados positivos na prova lenta e negativos no 2-ME devem ser interpretados como reações inespecíficas ou devido a anticorpos residuais de vacinação com B19. Os resultados positivos em ambas as provas indicam a presença de IgG, sendo aglutininas relacionadas com infecção, portanto, os animais são considerados infectados (BRASIL, 2006; BRASIL, 2009; PAULIN, 2003).

3.7.4 Teste de Fixação d Complemento (FC)

É um teste empregado em muitos países que erradicaram a brucelose ou estão em fase de erradicação. A Fixação de Complemento (FC) é o teste de referência recomendado pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) para o trânsito internacional de animais (BRASIL, 2006). Essa prova não diferencia animais recentemente vacinados com vacina B19 de animais infectados (COTORELLO, 2002).

3.8 O CONTROLE DA BRUCELOSE BOVINA

Com um bom planejamento, os programas de controle da brucelose bovina, podem atingir uma redução significativa da prevalência depois de aproximadamente 20 anos de trabalho. Essas estratégias já conhecidas são resumidas em: vacinação das fêmeas, certificação de propriedades livres ou monitoradas, controle do trânsito de animais e sistema de vigilância específico (POESTER et al., 2009).

A vacinação é uma das estratégias mais importantes na estrutura de um programa, especialmente nos países em desenvolvimento e com prevalências elevadas. O ideal é inicialmente rebaixar as prevalências com o programas de vacinação, e só então incrementar as atividades de diagnóstico e sacrifício. Pois isso reduziria os custos com reposição de animais (LAGE et al., 2006).

A certificação de propriedades livres de brucelose é regida por convenções internacionais da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE). Basicamente, é feita pela realização de testes sorológicos em intervalos regulares, com sacrifício dos positivos até a obtenção de um rebanho constituído exclusivamente por animais negativos.

Para controle do trânsito animais são estabelecidas exigências, como a comprovação da vacinação contra brucelose das fêmeas para obtenção da Guia de Trânsito Animal (GTA); exame sorológico com resultado negativo para animais que participam de exposições; e também para os animais destinados a reprodução em trânsito interestadual (LAGE et al., 2006).

O estabelecimento de um sistema de vigilância específico é primordial à credibilidade das atividades dos programas de controle da brucelose. Ele ocorre principalmente pela certificação de propriedades, ações de monitoramento e fiscalização em pontos críticos do processo. Ou seja, o serviço veterinário oficial realizará em qualquer momento, diagnósticos por amostragem em propriedades certificadas e fará um acompanhamento direto dos testes finais que garantem o certificado de propriedade livre (LAGE et al., 2008).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ESTRATIFICAÇÃO DO TERRITÓRIO

A investigação epidemiológica foi elaborada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pelo Centro Colaborador em Saúde Animal do MAPA localizado na Universidade de São Paulo, em colaboração com a Divisão de Defesa Sanitária Animal (DSA), da Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação do estado do Rio Grande do Sul (SEAPI-RS).

Inicialmente o estado foi dividido em sete regiões: 1 - Sul, 2 - Fronteira oeste, 3 - Missões central, 4 - Norte, 5 - Serra, 6 - Metropolitana, 7 - Costa norte. Os parâmetros considerados para a estratificação foram os diferentes sistemas de produção, práticas de manejo, tipo de exploração, tamanho médio do rebanho, sistema de comercialização dos animais e a capacidade operacional do serviço de defesa sanitária animal do Estado do Rio Grande do Sul.

4.2 DELINEAMENTO AMOSTRAL

Dentro de cada uma dessas regiões sorteou-se, aleatoriamente, um número pré-estabelecido de propriedades com atividade reprodutiva (unidades primárias de amostragem). Dentro de cada propriedade selecionada sorteou-se, aleatoriamente, um número pré-estabelecido de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses (unidades secundárias de amostragem).

Nas propriedades rurais onde existiam mais de um rebanho, foi escolhido o rebanho de maior importância econômica, no qual os animais estavam submetidos ao mesmo manejo, ou seja, sob os mesmos riscos de exposição à infecção. A

propriedade sorteada que, por motivos vários, não pôde ser visitada, foi substituída por meio de novo sorteio. O número de propriedades selecionadas por região foi estimado pela fórmula para amostras simples aleatórias (THRUSFIELD, 2007). Os parâmetros adotados para o cálculo foram: nível de confiança de 0.95, prevalência estimada de 0,20 e o erro de 0,05.

O planejamento amostral para as unidades secundárias visou estimar 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 bovina. Para tanto, foi utilizado o conceito de sensibilidade e especificidade agregadas (DOHOO et al., 2003). Para efeito dos cálculos foram adotados os valores de 0,95 e 0,995, respectivamente, para a sensibilidade e especificidade do protocolo de testes utilizado (FLETCHER et al., 1998) e 0,20 para a prevalência estimada.

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

4.3 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Amostras de sangue de todos os animais selecionados foram colhidas no período de janeiro a setembro de 2013, volume de 10 mL, através da punção da veia jugular com agulha hipodérmica estéril, descartável e tubo a vácuo, sem anticoagulante, previamente identificados com os números de identificação dos animais. As amostras foram transportadas sob refrigeração em caixas térmicas após o dessoramento para o laboratório. No laboratório foi transferido para microtubos de

polipropileno de 2 mL e congelados a -20°C até a realização dos testes pelo Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor.

4.4 DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO

O protocolo do sorodiagnóstico foi composto de triagem com o teste do antígeno acidificado tamponado (AAT), as amostras de soro reagentes ao AAT foram submetidas aos testes confirmatórios pareados de soroaglutinação lenta em tubo (SALT) e ao teste com 2-Mercaptoetanol (LAGE, 2006).

A propriedade foi considerada positiva quando detectado pelo menos um animal positivo.

4.5 ANALISE EPIDEMIOLÓGICA

O planejamento amostral permitiu determinar as prevalências de focos e de fêmeas adultas (≥ 24 meses) soropositivas para brucelose bovina no Estado e também nas regiões. Os cálculos das prevalências e os respectivos intervalos de confiança foram realizados conforme preconizado por Dean et al. (1994). As estimativas das prevalências de focos e de animais no Estado e de prevalência de animais dentro das regiões foram feitas de forma ponderada, segundo Dohoo et al. (2003).

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

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

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

$$P_2 = \frac{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses na propriedade}}{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses amostradas na propriedade}} \times \frac{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses na região}}{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses amostradas na região}}$$

Na expressão acima, o primeiro termo refere-se ao peso de cada animal no cálculo das prevalências de animais dentro das regiões.

As estimativas das prevalências e respectivos intervalos de confiança de 95% foram realizadas por meio do programa do programa R Core Team (2014).

Em cada propriedade amostrada, além da colheita de sangue para o exame sorológico, foi também aplicado um questionário epidemiológico, elaborado para obter informações sobre o tipo de exploração e as práticas de manejo empregadas.

As variáveis analisadas foram: tipo ou sistema de exploração (carne, leite e misto), tipo de criação (confinado, semiconfinado, extensivo), utilização de inseminação artificial, raças predominantes, número de animais, presença de outras espécies domésticas e silvestres, ocorrência de aborto nos últimos 2 anos, destino da placenta e dos fetos abortados, compra e venda de animais, vacinação contra brucelose bovina, compartilhamento de pastagens com outras propriedades, ocorrência de alagamentos nas pastagens, existência de piquete de parição e de assistência veterinária.

As variáveis foram organizadas em escala crescente de risco. Quando necessário foram recategorizadas. A categoria de menor risco foi considerada como base para comparação das demais categorias. As variáveis quantitativas foram categorizadas em percentis.

A análise de fatores de risco foi efetuada em duas etapas: análise univariada e análise multivariada. Na análise univariada, cada variável independente foi cruzada

com a variável dependente (condição sanitária da propriedade). As que apresentaram um valor de $p \leq 0,2$ pelo teste de X^2 (qui-quadrado) ou teste exato de Fisher (ZAR, 1999), foram selecionadas e oferecidas para a análise multivariada, utilizando-se a regressão logística múltipla (HOSMER; LEMESHOW, 1989), para a definição de um modelo que melhor identificasse os fatores de risco.

O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%. As análises foram feitas por estrato e também no âmbito estadual. Neste último caso, foram consideradas as ponderações realizadas para o cálculo da prevalência de focos (amostra aleatória estratificada). A significância dos modelos finais foi avaliada pelo teste da razão de verossimilhança (*likelihood ratio test*) (HOSMER; LEMESHOW, 2000; LATORRE, 2004). Os cálculos foram realizados com o auxílio do programa R Core Team (2014).

Todas as informações geradas pelo trabalho de campo e de laboratório foram inseridas em um banco de dados específico, para serem utilizados nas análises epidemiológicas.

5 RESULTADOS

O Estado foi dividido em sete regiões (Figura 2). Foram colhidas amostras de 6872 fêmeas bovinas provenientes de 1067 propriedades. Foram excluídas 4 propriedades por apresentarem exclusivamente animais com resultados sorológicos negativos e inconclusivos. O Quadro 1 traz o resumo dos dados censitários e da amostra estudada. O Quadro 2 mostra as prevalências de focos e de animais nas regiões e no Estado. As prevalências de focos por tipo de exploração nas regiões constam do Quadro 3. As comparações das prevalências obtidas por Marvulo et al. (2009) em 2004 com as verificadas no presente estudo estão apresentadas na Figura 3.

Os resultados da análise univariada estão apresentados no Quadro 4 e no Quadro 5 o modelo final da regressão logística para os fatores de risco associados à condição de foco de brucelose bovina no Rio Grande do Sul.

Figura 2 - Mapa do Estado do Rio Grande do Sul com a divisão em regiões.

Quadro 1 - Dados censitários e da amostra do Estado do Rio Grande do Sul, 2013.

Região	propriedades com atividade reprodutiva	propriedades amostradas	fêmeas com idade ≥ 24 meses	fêmeas com idade ≥ 24 meses amostradas
1. Sul	35589	150	978737	989
2. Fronteira Oeste	34874	155	2195220	1403
3. Missões Central	47483	149	937859	1075
4. Norte	93888	155	899861	997
5. Serra	36486	151	539037	971
6. Metropolitana	73259	152	746561	748
7. Litoral Norte	10144	152	142344	689
Total	331723	1063	6439619	6872

Quadro 2 - Prevalência de focos e de animais para brucelose bovina no Estado do Rio Grande do Sul, 2013.

Região	Propriedades			Fêmeas		
	Positivas / amostradas	Prevalência (%)	IC95% (%)	Positivas / amostradas	Prevalência (%)	IC95% (%)
1	10/150	6.67	3.23-11.94	17/989	1.66	0.46-4.17
2	14/155	9.03	5.02-14.71	32/1,403	1.09	0.33-2.65
3	8/149	5.37	2.34-10.33	12/1,075	1.67	0.58-3.72
4	4/155	2.58	0.70-6.49	4/997	0.40	0.10-1.08
5	1/151	0.66	0.02-3.65	1/971	0.05	0.00-0.29
6	1/152	0.66	0.02-3.63	1/748	0.06	0.00-0.36
7	8/152	5.30	2.31-10.19	14/689	2.03	0.62-4.86
Total	46/1,063	3.54	2.49-4.88	81/6,872	0.98	0.57-1.57

Quadro 3 - Prevalência de focos de brucelose bovina nas regiões do Estado do Rio Grande do Sul, segundo a tipologia da unidade produtiva, 2013.

Região	Corte		Leite		Mista	
	Prevalência % (p/e*)	IC95% (%)	Prevalência % (p/e*)	IC95% (%)	Prevalência % (p/e*)	IC95% (%)
1	11.94 (8/67)	5.28-22.22	1.79 (1/56)	0.04-9.59	3.70 (1/27)	0.09-19.05
2	10.24 (13/127)	5.55-16.89	5.26 (1/19)	0.13-26.13	0.00 (0/9)	0.00-25.89 ¹
3	9.59 (7/73)	3.93-18.80	0.00 (0/40)	0.00-7.05 ¹	2.78 (1/36)	0.07-14.59
4	0.00 (0/10)	0.00-23.84 ¹	3.33 (3/90)	0.69-9.46	1.82 (1/55)	0.05-9.76
5	0.00 (0/36)	0.00-7.78 ¹	0.00 (0/72)	0.00-4.02 ¹	2.33 (1/43)	0.06-12.34
6	2.33 (1/43)	0.06-12.34	0.00 (0/57)	0.00-5.03 ¹	0.00 (0/52)	0.00-5.50 ¹
7	7.06 (6/85)	2.62-14.77	0.00 (0/17)	0.00-15.33 ¹	4.08 (2/49)	0.49-14.03

* positivas/examinadas; ¹ Cálculo utilizando o método de Monte Carlo e distribuição beta.

Figura 3. Comparação das prevalências de animais e de focos para brucelose bovina entre o presente estudo (2013) e o realizado em 2004 no Estado do Rio Grande do Sul.

Quadro 4 - Resultados da análise univariada dos possíveis fatores de risco para brucelose bovina ($p < 0,20$) no Estado do Rio Grande do Sul, 2013.

Variáveis		Proporção de rebanhos infectados	%	p
Vacinação com a B19	Não	1/346	0.3	<0.001
	Sim	45/696	6.5	<0.001
Tipo de exploração	Corte	35/441	7.9	<0.001
	Mista	5/351	1.4	<0.001
	Leite	6/271	2.2	<0.001
Tamanho do rebanho	<15 fêmeas adultas	22/797	2.8	<0.001
	≥15 fêmeas adultas*	24/266	9	<0.001
Abate com inspeção	Não	22/782	2.8	<0.001
	Sim	24/281	8.5	<0.001
Abate na fazenda	Não	32/476	6.7	0.001
	Sim	14/587	2.4	0.001
Numero de ordenhas	Não ordenha	31/429	7.2	0.001
	1 ordenha/dia	7/199	3.5	0.001
	2 ou 3 ordenhas /dia	6/356	1.7	0.001
Compartilha pastagem	Não	31/885	3.5	0.010
	Sim	14/165	8.5	0.010
Tipo de criação	Extensivo	39/679	5.7	0.011
	Semiconfinamento	7/360	1.9	0.011
	Confinamento	0/7	0	0.011
Compartilha aguada	Não	35/929	3.8	0.013
	Sim	11/116	9.5	0.013
Aquisição de reprodutores	Não	22/674	3.3	0.027
	Sim	24/377	6.4	0.027
Inseminação artificial	Não	36/633	5.7	0.054
	Apenas inseminação	2/147	1.4	0.054
	Inseminação e repasse com touro	8/217	3.7	0.054
Há piquete de parto	Não	34/869	3.9	0.114
	Sim	12/183	6.6	0.114
Há Caprinos/ovinos	Não	30/802	3.7	0.114
	Sim	16.261	6.1	0.114
Aquisição de animais	Não	21/584	3.6	0.174
	Sim	25/466	5.4	0.174

* terceiro quartil

Quadro 5 - Modelo final de regressão logística múltipla de fatores de risco (odds ratio) para brucelose bovina em rebanhos com atividade reprodutiva no Estado do Rio Grande do Sul.

Variável	Odds ratio	IC95% (%)	p
Tamanho do rebanho $\geq$ 15 fêmeas adultas	2.57	1.35-4.98	0.004
Exploração tipo corte	4.21	1.73-12.59	0.004
Compartilhamento de pastagem	2.21	1.10-4.27	0.020

6 DISCUSSÃO

A prevalência de focos no estado foi de 3,54% [2,49-4,88] (Quadro 2). Considerando as estimativas pontuais das prevalências de focos (Quadro 2), verificam-se claras diferenças entre dois grupos de regiões, um composto pelas regiões 1, 2, 3 e 7, com prevalências mais elevadas, variando entre 5,3% e 9,03%, e outro composto pelas regiões 4, 5 e 6, com prevalências variando entre 0,66% e 2,58%. As regiões 1, 2 e 3 notabilizam-se pela produção de carne no estado (SANTOS et al., 2007), cujas propriedades apresentam um número maior de animais quando comparadas às do tipo leite e mistas.

A mediana de vacas das propriedades do tipo carne, mista e leite foram de, respectivamente, 10, 6 e 3. De fato, ter mais do que 15 vacas e ser um rebanho de corte emergiram como fatores de risco para a infecção brucélica (Quadro 5). A região 7 representa o litoral norte e caracteriza-se por propriedades pequenas e com práticas de manejo muito simples. As regiões 4, 5 e 6, localizadas ao norte do estado, concentram o maior número de propriedades rurais, de rebanhos pequenos e dedicados principalmente à pecuária de leite (SANTOS et al., 2007). Os dados da Quadro 3 corroboram essas afirmativas. Marvulo et al. (2009) descreveram este mesmo padrão de distribuição dos focos de brucelose bovina no Rio Grande do Sul no ano de 2004.

A prevalência de animais soropositivos no estado foi de 0,98% [0,57-1,57] (Quadro 2) e a distribuição das prevalências nas regiões espelha o ocorrido com as prevalências de focos, discutidas no parágrafo anterior.

Em relação aos resultados obtidos em 2004 (MARVULO et al., 2009), as prevalências calculadas no presente estudo não mostraram diferenças estatisticamente significantes, ou seja, o programa de vacinação desenvolvido pelo estado não produziu rebaixamento da prevalência. Assim, recomenda-se que o Rio Grande do Sul prossiga com seu programa de vacinação, dando ênfase para a qualidade do processo, desde a compra da vacina até a sua aplicação. Além disso, deve também estimular a utilização da vacina não indutora de anticorpos em animais

adultos, visto que essa prática impacta positivamente o rebaixamento da prevalência (SOUZA et al., 2016).

Além do Rio Grande do Sul, os estados de São Paulo, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Rondônia, e Santa Catarina também realizaram o segundo estudo de prevalência da brucelose. Destes, o Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Rondônia foi verificada a diminuição da prevalência de focos em função da vacinação (BARDALL et al., 2016; LEAL FILHO et al., 2016; INLAMEA et al., 2016; DIAS et al., 2016c; ANZAI et al., 2016; BAUNGARTEN et al., 2016).

O modelo final de regressão logística indicou que rebanhos com 15 ou mais vacas, propriedades do tipo corte e o compartilhamento de pastagem, estão associados à condição de focos para brucelose bovina no estado (Quadro 5).

A associação entre tamanho do rebanho e brucelose já foi reportada por inúmeros autores internacionais (KELLAR et al., 1976; NICOLETTI, 1980; SALMAN e MEYER, 1984). No Brasil, essa associação também foi verificada nos estados de Rondônia, Rio de Janeiro, Sergipe, Tocantins, São Paulo, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso (AGUIAR et al., 2007; KLEIN-GUNNEWIEK et al., 2009; SILVA et al., 2009; OGATA et al., 2009; DIAS et al., 2009b; CHATE et al., 2009; NEGREIROS et al., 2009).

Algumas características dos rebanhos maiores facilitam a transmissão da brucelose, especialmente a maior necessidade de reposição de animais, a maior dificuldade de implementar medidas de controle da doença e a própria dinâmica da brucelose (CRAWFORD et al., 1990). Christie (1969) observou que o aumento do rebanho resulta em aumento da probabilidade de ocorrência, da persistência da infecção e da dificuldade em erradicar a brucelose. Portanto, quanto maior o rebanho, maior o risco de se introduzir a brucelose e maior a probabilidade de seu espalhamento intra-rebanho.

O fato de propriedades de corte terem apresentado risco mais elevado de serem focos de brucelose, provavelmente resulta do fato de terem rebanhos maiores. No estado, a mediana do número de vacas em propriedades de corte foi 10, nas propriedades mistas 6 e nas propriedades de leite 3.

O compartilhamento de pastagem faz com que animais advindos de diferentes propriedades convivam no mesmo ambiente, aumentando a probabilidade de contato entre suscetíveis e infectados, visto que a condição sanitária das propriedades de origem desses animais pode ser distinta. Assim, o compartilhamento de pastagens é uma modalidade de contato indireto entre propriedades.

O aluguel de pastagem, outra modalidade de contato indireto entre propriedades, já foi reportado como fator de risco para brucelose bovina nos estados do Paraná e Rio de Janeiro. A prática de aluguel de pasto pode favorecer o contato dos animais com ambientes previamente contaminados. Segundo Wray (1975), o principal risco de infecção por *B. abortus* está relacionado à contaminação ambiental por produtos de aborto. Dependendo das condições ambientais, os produtos do aborto poderão manter as brucelas viáveis por até 180 dias (Crawford et al., 1990).

7 CONCLUSÕES

- A situação epidemiológica da brucelose bovina no Rio Grande do Sul manteve-se estável desde 2004, a despeito de boas coberturas vacinais terem sido registradas a partir de 2009;
- O estado deve continuar seu programa de vacinação, dando ênfase para a qualidade do processo;
- O Estado deve também estimular a utilização da vacina não indutora de anticorpos;
- Adicionalmente, o estado deve realizar um grande esforço de educação para que os produtores testem os animais de reprodução para brucelose antes de introduzi-los em suas propriedades;
- Evitar o compartilhamento de pastagens entre rebanhos de condição sanitária desconhecida.

8 AGRADECIMENTOS

Às equipes da Defesa Sanitária Animal (DSA) da Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação (SEAPI) do Rio Grande do Sul e ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**. 3. ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2001. 416 p.

AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; LABRUNA, M. B.; VASCONCELLOS, S. A.; RODRIGUES, A. A. R.; MORAIS, Z. M.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Risk factors and seroprevalence of *Brucella* spp. in cattle from western Amazon, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, p. 301-305, 2007.

ALMEIDA, E. C.; FREITAS, A. A.; PONTUAL, K. A. Q.; SOUZA, M. M. A.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; GONÇALVES, V. S. P.; TELLES, E. O.; EVÊNCIO NETO, J.; MARVULO, M. F. V.; FERREIRA NETO, J. S.; SILVA, J. C. R. Prevalence and associated risk factors for bovine brucellosis in the state of Pernambuco, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, supl. 2, p. 3413-3424, 2016.

ALVES, A. J. S.; GONÇALVES, V. P. S.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; BAHIANSE, L.; AMAKU, M.; FERNANDO, F.; FERREIRA NETO, J. S.; DIAS, R. A. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Bahia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, supl. 1, p. 6-13, 2009.

AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA NETO, J. S.; FERREIRA, F. Modelagem matemática do controle de brucelose bovina por vacinação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, supl. 1, p. 135-141, 2009.

ANZAI, E. K.; COSTA, D.; SAID, A. L. P. R.; GRISI FILHO, J.H.H.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; GALVIS, J. O. A.; GONÇALVES, V. S. P.; HEINEMANN, M. B.; TELLES, E. O.; FERREIRA NETO, J. S. Epidemiological situation of bovine brucellosis in the State of Espírito Santo after implementation of vaccination program. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, supl. 2, p. 3437-3448, 2016.

AZEVEDO, S. S.; FERREIRA NETO, J. S.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; GONÇALVES, V. S. P.; SOUZA, A.C.; VASCONCELLOS, S.A. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Espírito Santo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, supl. 1, p. 19-26, 2009.

BARDALL, J. E. I.; SANTOS, J. C. Q.; LOPES, I. F.; FERREIRA NETO, J. S.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; TELLES, E. O.; GRISI FILHO, J. H. H.; GONÇALVES, V. S. P.; AGUIAR, D. M. Effect of vaccination in lowering the prevalence of bovine brucellosis in the state of Mato Grosso, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, supl. 2, p. 3479-3492, 2016.

BAUMGARTEN, K. D.; VELOSO, F. P.; GRISI FILHO, J. H. H.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; TELLES, E. O.; GONÇALVES, V. S. P.; FERREIRA NETO, J. S. Prevalence and risk factors for bovine brucellosis in Santa Catarina State, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, supl. 2, p. 3425-3436, 2016.

BORBA, M. R.; STEVENSON, M. A.; GONÇALVES, V. S. P.; FERREIRA NETO, J. S.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; TELLES, E. O.; SANTANA, S. S.; FERREIRA, J. C. A.; LÔBO, J. R.; FIGUEIREDO, V. C. F.; DIAS, R. A. Prevalence and risk-mapping of bovine brucellosis in Maranhão State, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 110, p. 169-176, 2013.

BOLETIM DE DEFESA SANITÁRIA ANIMAL, Brasília, v.22, n.1/4, 1988.

BRAZIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº02 de 10 janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília, 4 jun. 2001. Seção 1, p. 26-31.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Legislação: programas nacionais de saúde animal do Brasil. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Departamento de Saúde Animal**. – Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2009.

CHATE, S. C.; DIAS, R. A.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; MORAES, G. M.; COSTA NETO, A. A.; MONTEIRO, L. A. R. C.; LÔBO, J. R.; FIGUEIREDO, V. C. F.; GONÇALVES V. S. P., FERREIRA NETO J. S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Mato Grosso do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, supl. 1, p. 46-55, 2009.

CHRISTIE, T. E. Eradication of brucellosis in Northern Ireland: Field problems and experiences. **Veretinary Record**, v. 85, p. 268-269, 1969.

CLEMENTINO, I. J.; DIAS, R. A.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; TELLES, E. O.; GONÇALVES, V. S. P.; FERREIRA NETO, J. S.; ALVES, C. J.; BEZERRA, C. S.; AZEVEDO, S. S. Epidemiological situation of bovine brucellosis in the State of Paraíba, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, supl. 2, p. ,3403-3412 , 2016.

COTTORELLO, A. C. P.; NUNES, K.; MARSHALL, M.; RIBEIRO, A. F. C.; FILHO, F. A.; SUNG, W. Brucelose. 2002. Disponível em:
<<http://www.vet.uga.edu/vpp/archives/NSEP/Brazil2002/brucella/Port/index.htm>>.
Acesso em: 12 nov. 2016.

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

DEAN, A. G.; DEAN, J. A.; COLOMBIER, D.; SMITH, D. C.; BURTON, A. H.; DICKER, R. C.; SULLIVAN, K.; FAGAN, R. F.; ARNER, T. G. **Epi-Info, version 6: A word processing database and statistics program for epidemiology on microcomputers**. Atlanta: CDC, 1994. 601p.

DIAS, J. A.; MÜLLER, E. E.; DIAS, R. A.; FREITAS, J. C.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; SILVA, M. C. P.; LÔBO, J. R.; FIGUEIREDO, V. C. F.; GONÇALVES, V. S. P.; FERREIRA NETO, J. S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Paraná. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, supl. 1, p. 66-76, 2009a.

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, 2009b.

DIAS, R. A.; BELCHIOR, A. P. C.; FERREIRA, R. S.; GONÇALVES, R. C.; BARÃO, R. S. C.; SOUSA, P. R.; SANTOS, A. M. A.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; TELLES, E. O.; GRISI FILHO, J. H. H.; GONÇALVES, V. S. P.; FERREIRA NETO, J. S. Controlling bovine brucellosis in the State of São Paulo, Brazil: results of ten years of vaccination program. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, supl. 2, p. 3505-3518, 2016c.

DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. **Veterinary epidemiologic research**. Charlottetown. Canadá: Atlantic Veterinary College, 2003. 706p.

FERREIRA, A. J. C. **Doenças infecto-contagiosas dos animais domésticos**. 4 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1990.

FLETCHER, R. H.; FLETCHER, S. W.; WAGNER, E. H. **Clinical epidemiology: The essentials**. 2.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. 246p.

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

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, 2009a.

GONÇALVES, V. S. P.; RIBEIRO, L. A.; CALDAS, R. A.; FRANCISCO, P. F. C.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; FERREIRA NETO, J. S.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; BORGES, J. R. J. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Distrito Federal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, supl. 1, p. 14-18, 2009b.

HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara: Koogan, 2003.

HOSMER, D. W.; LAMESHOW, S. **Applied logistic regression**. New York: John Wiley and Sons, 1989. 307 p.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico 2010**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=rs>> Acesso em: 30 jan. 2016.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária municipal**. Rio de Janeiro, v. 41, p. 1-108, 2013. Disponível em: <file:///C:/Users/Zoonoses/Documents/Rio%20Grande%20do%20Sul%20dados/ibge_2013.pdf> Acesso em: 30 jan. 2016.

INLAMEA, O.F.; ROCHA, A.B.; FERREIRA, F.; GRISI FILHO, J.H.H.; HEINEMANN, M.B.; DIAS, R.A.; TELLES, E.O.; GONÇALVES, V.S.P.; AMAKU, M.; FERREIRA NETO, J. S. Effect of vaccination in lowering bovine brucellosis in the State of Rondônia, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, supl. 2, p. 3493-3504, 2016.

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

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

LAGE, A. P.; ROXO, E.; MULLER, E. E.; POESTER, F. P.; CAVALLÉRO, J. C. M.; FERREIRA NETO, J. S.; MOTA, P. M. P. C.; GONÇALVES, V. S. P. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal. Brasília, 2006. 188 p.

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

LEAL FILHO, J.M.; BOTTENE, I.F.N.; MONTEIRO, L.A.R.C.; PELLEGRIN, A.O.; GONÇALVES, V.S.P.; FERREIRA, F.; DIAS, R.A.; AMAKU, M.; TELLES, E.O.; GRISI FILHO, J.H.H.; FERREIRA NETO, J.S. Control of bovine brucellosis in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil, from 1998 to 2009. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, supl. 2, p. 3467-3478, 2016.

LUVIZOTTO, C. K. **As tradições gaúchas e sua racionalização na modernidade tardia** [online]. São Paulo. Editora UNESP. 2010. 140 p. Disponível em: <<http://books.scielo.org>>. Acesso em: 01 dez. 2016.

MARION FILHO, P. J.; REICHERT, H.; SHUMACHER, G. **A pecuária no Rio Grande do Sul: a origem, a evolução recente dos rebanhos e a produção de leite**. [S.l.: s.n., s.d.]. Disponível em: <http://cdn.fee.tche.br/eeg/6/mesa13/A_Pecuaria_no_RS_A_origem_Evolucao_Recepte_dos_Rebanhos_e_a_Producao_de_Leite.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2016.

MARVULO, M. F. V.; FERREIRA, F.; DIAS, R. A.; AMAKU, M.; GROFF, A. C. M.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; FERREIRA NETO, J. S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, supl. 1, p. 93-102, 2009.

MORAES, C. D. **Figuras e Ciclos da História Rio-Grandense**. Porto Alegre: Globo, 1959.

NEGREIROS, R. L.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S.; GONÇALVES, V.S.P.; SILVA, M. C. P.; FIGUEIREDO, V.C.F.; LÔBO, J.R.; FREITAS, J.; AMAKU, M. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Mato Grosso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, supl. 1, p. 56-65, 2009.

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

OGATA, R. A.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; RODRIGUES, A. L.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S.; DIAS, R. A. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Tocantins. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, supl. 1, p. 126-134, 2009.

OLIVEIRA, L. F.; DORNELES, E. M. S.; MOTA, A. L. A. A.; GONÇALVES, V. S. P.; FERREIRA NETO, J. S.; FERREIRA, F.; DIAS, R. A.; TELLES, E. O.; GRISI-FILHO, J. H. H.; HEINEMANN, M. B.; AMAKU, M.; LAGE, A. Seroprevalence and risk factors for bovine brucellosis in Minas Gerais State, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, supl. 2, p.339-3446, 2016.

PAULIN, L. M. Artigo de revisão Brucelose. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 2, p. 239-249, abr./jun., 2003.

PAULIN, L. M. S.; ANDRADE-PACHECO, W. A.; CASTRO, V.; FEDERSONI, I. S. P. Evaluación entre cuatro técnicas serológicas para el diagnóstico de infecciones causadas por *Brucella abortus* en bovinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 1, p. 9-15, jan./mar., 2009.

PAULIN, L. M.; FERREIRA NETO, J. S. A Experiência brasileira no combate à brucelose bovina. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 2, p. 105–112, 2002.

PAULIN, L. M.; FERREIRA NETO, J. S. **O combate à brucelose bovina: situação brasileira**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 154 p.

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

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

POESTER, F.P. Histórico da Brucelose no Rio Grande do Sul. In: Seminário sobre as perspectivas do PNCEBT, p. 1 -13, 29 a 30 de outubro de 2012, Porto Alegre, RS.

PRADO JUNIOR, C. **História Econômica do Brasil**. São Paulo:Brasiliense, 1973.

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

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

SANTOS, D. V.; DUTRA, M. G. B.; GROFF, F. H. S. Vacinação do rebanho bovino gaúcho contra febre aftosa em janeiro de 2007. **Hora Veterinária**, v.27, n. 159, p. 13-16, 2007.

SIKUSAWA, S.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA NETO, J. S.; MARTINS, C.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; FERREIRA, F. 2009. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Santa Catarina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, supl. 1, p.103–108, 2009.

SILVA, N. S.; GROFF, A. C. M.; VIDOR, A. C. M.; GRISI-FILHO, J. H. H.; HEINEMANN, M. B.; DIAS, R. A.; TELLES, E. O.; GONÇALVES, V. S. P.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S. Epidemiological situation of bovine brucellosis after implementation of a vaccination program in Rio Grande do Sul, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, supl. 2, p. 3519-3520, 2016.

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

OLIVEIRA, L. F.; DORNELES, E. M. S.; MOTA, A. L. A. A.; GONÇALVES, V. S. P.; FERREIRA NETO, J. S.; FERREIRA, F.; DIAS, R. A.; TELLES, E. O.; GRISI-FILHO, J. H. H.; HEINEMANN, M. B.; AMAKU, M.; LAGE, A. Seroprevalence and risk factors for bovine brucellosis in Minas Gerais State, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, supl. 2, p.339-3446, 2016

THRUSFIELD, M. **Veterinary Epidemiology**. 3. ed. Cambridge: Blackwell Science, 2007. 610 p.

VILLAR, K. S.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA NETO, J. S.; BENITEZ, F.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; FERREIRA, F. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Rondônia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, supl.1, p. 85-92, 2009.

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

ZANIRATO, S. H. O patrimônio natural do Brasil. **Revista do Programa de Estudos Pós-Graduandos de História**, v. 40, p. 127-145, 2010. Disponível em: <<http://revistas.pucsp.br/index.php/revph/article/viewarticle/6127>>. Acesso em: 29 nov. 2016

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4. ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999. 663 p.