FABIANO BENITEZ VENDRAME

**Impacto da vacinação na prevalência da brucelose bovina no
estado de Tocantins, Brasil**

São Paulo

2018

FABIANO BENITEZ VENDRAME

Impacto da vacinação na prevalência da brucelose bovina no estado de Tocantins, Brasil

Dissertação/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 Mestre/Doutor em Ciências.

Departamento:

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal – VPS/FMVZ/USP

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto

De acordo:

Orientador

São Paulo
2018

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

FABIANO BENITEZ VENDRAME

**Impacto da vacinação na prevalência da brucelose bovina no
estado de Tocantins, 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:

Departamento de Medicina Veterinária
Preventiva e Saúde Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às
Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto

São Paulo

2018

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgílio Ruff Crôpice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3703
FMVZ

Vendrame, Fabiano Benítez
Impacto da vacinação na prevalência da brucelose bovina no estado de Tocantins,
Brasil / Fabiano Benítez Vendrame. – 2010.
36 f. : il.

Doutorado (Tese) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo,
2010.

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. Brucelose bovina. 3. Prevalência. 4. Tocantins, Brasil. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Situação Epidemiológica da Brucelose Bovina no Estado de Tocantins", protocolada sob o CEUA nº 9252240118 (ID 005370), sob a responsabilidade de **José Soares Ferreira Neto e equipe; FABIANO BENITEZ VENDRAME** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 15/08/2018.

We certify that the proposal "Epidemiological Situation of Bovine Brucellosis in the State of Tocantins.", utilizing 2000 Bovines (2000 females), protocol number CEUA 9252240118 (ID 005370), under the responsibility of **José Soares Ferreira Neto and team; FABIANO BENITEZ VENDRAME** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 08/15/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **03/2018** a **03/2019**

Área: **Medicina Veterinária Preventiva E Saúde Animal**

Origem:	Animais de proprietários						
Espécie:	Bovinos	sexo:	Fêmeas	idade:	2 a 10 anos	N:	1000
Linhagem:	Em geral zebrinos		Peso:		300 a 700 kg		
Origem:	Animais de proprietários						
Espécie:	Bovinos	sexo:	Fêmeas	idade:	2 a 10 anos	N:	1000
Linhagem:	Zebrinos		Peso:		300 a 700 kg		

Local do experimento: Laboratório de informática do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva.

São Paulo, 24 de agosto de 2018

Prof. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: VENDRAME, Fabiano Benitez

Título: **Impacto da vacinação na prevalência da brucelose bovina no estado de Tocantins, 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 Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais, Floriano Benitez Gasques e Maria Vendrame Benitez, por serem pessoas de caráter e terem passado a seus filhos valores éticos e morais. Obrigações essas tão raras no Brasil atual. Dedico ainda a minha pequena filha, Alicinha.

AGRADECIMENTOS

A DEUS em primeiro lugar.

A Universidade de São Paulo (USP), especificamente ao amigo e orientador prof. Dr. José Soares Ferreira Neto, pela paciência e imensurável colaboração e orientação para realizar o presente trabalho. Ao prof. Dr. Fernando Ferreira pela prestatividade na análise dos dados ora apresentados.

Ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA).

A Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Tocantins (ADAPEC) e todos os colegas médicos veterinários pela realização dos trabalhos a campo e por me concederem a presente oportunidade.

A Agência de Defesa Sanitária Agrossilvopastoril do Estado de Rondônia (IDARON) e ao Governo do Estado de Rondônia pela concessão de licença para qualificação, sem a qual seria inviável a pós graduação.

A CAPES. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

A todos aqueles, que de alguma forma contribuíram para a realização do presente trabalho, que ora não cito nomes para não incorrer na falha e injustiça de esquecer alguma citação merecida.

A minha tia Nair e primos irmãos pela utópica acolhida em minha estada nesta capital.

Ao primo e irmão Zé Marcio pelas relevantes contribuições prestadas não só a este trabalho, mas a vida.

Aos meus pais e irmãos pelo apoio e exemplos de vida.

A todos as pessoas e situações, que me jogaram pedras, pois estas nunca me foram empecilho, mas sim instrumentos, degraus que me fizeram escalar e crescer na jornada da vida.-

RESUMO

VENDRAME, F. B..**Impacto da vacinação na prevalência da brucelose bovina no estado de Tocantins, Brasil**. 2018. 36 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Foi realizado um estudo seccional sobre a situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Tocantins com o objetivo de avaliar a eficácia do programa de vacinação implementado. O Estado foi dividido em cinco regiões e em cada uma delas foi aleatoriamente amostrado um número pré-estabelecido de propriedades. Dentro de cada propriedade, fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses foram aleatoriamente selecionadas e submetidas à sorologia em série para o diagnóstico da brucelose (AAT e 2-Mercaptoetanol). Ao todo foram examinados 6.846 animais oriundos de 756 propriedades. A prevalência de focos no estado foi de 6,42% [4,76 - 8,62] e a de animais 2,21% [1,05 - 4,01]. A prevalência de focos apresentou-se homogeneamente distribuída entre as cinco regiões. Como o estudo realizado em 2003/2003 estimou a prevalência de focos no estado em 21,22% [19,33 - 23,11], conclui-se que o programa de vacinação implementado pelo Tocantins reduziu a prevalência de maneira importante. Assim, recomenda-se que o estado continue seu programa de vacinação, dando grande ênfase para a qualidade dos procedimentos, desde a comercialização do insumo até a inoculação nos animais, pois a imunização ainda é a maneira mais racional de se reduzir a prevalência da brucelose bovina no seu território. Adicionalmente, o estado deve implementar uma forte ação de educação sanitária para que os produtores passem a testar os animais para brucelose antes de introduzi-los nos seus rebanhos, pois verificou-se que a reposição de animais está associada à condição de foco de brucelose bovina.

Palavras-chave: brucelose bovina, B19, fatores de risco, prevalência, Tocantins, Brasil.

ABSTRACT

VENDRAME, F. B. **Impact of vaccination on the prevalence of bovine brucellosis in the state of Tocantins, Brazil.** 2018. 36 f. Thesis (Doctorate in Sciences) - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo, São Paulo, 2018.

A cross-sectional study on the situation of bovine brucellosis was carried out in the State of Tocantins in order to evaluate the effectiveness of the vaccination program implemented. The state was divided into five regions and in each of them was randomly sampled a pre-established number of farms. Within each property, females aged 24 months or older were randomly selected and submitted to serology for the diagnosis of brucellosis (AAT and 2-ME). A total of 6,846 animals, from 756 farms, were examined. The prevalence of infected herds in the state was 6.42% [4.76 - 8.62] and the prevalence of seropositive animals was 2.21% [1.05 - 4.01]. The prevalence of infected herds was homogeneously distributed among the regions. As the 2003/2003 study estimated the prevalence of infected herds in the state in 21.22% [19.33 - 23.11], it was concluded that the vaccination program implemented by Tocantins significantly reduced prevalence. Thus, it is recommended that the state continue its vaccination program, placing emphasis on the quality of the procedures, from the commercialization of the vaccine to the animal inoculation, since immunization is still the most rational way to reduce the prevalence of brucellosis on its territory. In addition, the state should implement a strong health education program so that farmers start testing animals for brucellosis before introducing them into their herds, as it has been verified that the replacement of animals is the major risk factor for bovine brucellosis in Tocantins.

Key words: bovine brucellosis, B19, risk factors, prevalence, Tocantins, Brazil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Prevalência de focos de brucelose bovina no Brasil conforme resultados dos primeiros estudos padronizados pelo MAPA. Fonte: Ferreira Neto et al. (2016).....	15
Figura 2- Cobertura vacinal com amostra B19 no estado de Tocantins de 2004 a 2017. Fonte: dados não publicados da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Tocantins (ADAPEC TO).....	16
Figura 3. Mapa do estado de Tocantins segundo as regiões do estudo: 1) Bico do Papagaio, 2) Araguaína, 3) Jalapão, 4) Central e 5) Sul. Em detalhe, a localização da Unidade Federativa no Brasil.....	20
Figura 4. Regionalizações do estado de Tocantins adotadas nos estudos realizados em 2002/2003 (A) e 2014/2015 (B), referentes à situação epidemiológica da brucelose bovina.....	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados censitários e amostrais do estudo da situação epidemiológica da brucelose bovina no estado de Tocantins, Brasil.....	21
Tabela 2 - Prevalências de focos e de animais para brucelose bovina e respectivos intervalos de confiança (IC), segundo as regiões do estado de Tocantins. Brasil, 2014-2015.....	21
Tabela 3 -Prevalência de focos de brucelose bovina e respectivos intervalos de confiança (IC), estratificadas por tipo de exploração nas regiões do estado de Tocantins. Brasil, 2014-2015.....	21
Tabela 4 - Modelo final de regressão logística para brucelose bovina no estado de Tocantins. Brasil, 2014-2015.....	21

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	MATERIAL E METODOS.....	16
3	RESULTADOS.....	19
4	DISCUSSÃO	21
5	CONCLUSÃO.....	25
	REFERÊNCIAS.....	26
	APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO E TABELA DE ANIMAIS AMOSTRADOS.	33

1 INTRODUÇÃO

Criado em 05 de outubro de 1988, juntamente com a promulgação da última constituição brasileira, Tocantins (TO) é o mais jovem estado da Federação. Com uma população de 1.555.229 habitantes (IBGE/2018), distribuídos ao longo de 139 municípios, o estado ocupa uma área geográfica de 278 mil km², o nono em extensão territorial. Localizado ao sudeste da Amazônia brasileira, tem como áreas limítrofes os estados de Mato Grosso e Goiás no Centro Oeste, Pará na Região Norte e Maranhão, Piauí e Bahia na Região Nordeste. Seu povoamento foi iniciado por missionários católicos chefiados por Frei Cristóvão de Lisboa e por bandeirantes chefiados por Bartolomeu Bueno, que percorreram a região hoje correspondente aos estados de Goiás e Tocantins ao longo do século XVIII (Silva et al., 2007).

O antigo Norte Goiano, atual estado do Tocantins, teve seu povoamento iniciado durante o ciclo do ouro, por volta de 1730; foi marcado pela lentidão e por etapas distintas: período aurífero (século XVIII), agropecuário tradicional (séculos XIX e XX), colonização espontânea e oficial em zonas pioneiras (primeiras décadas do século XX), bem como os garimpos de cristal, que deram origem a algumas cidades no Norte (primeira metade do século XX) como Cristalândia, Pium e Dueré. Também contribuíram para o nascimento de algumas cidades os presídios militares (Araguacema) e os aldeamentos (Dianópolis, Pedro Afonso, Itacajá e Tocantínia) (VINHAL, 2009; CERQUEIRA, 2016).

A chegada de imigrantes, oriundos principalmente das regiões sul/sudeste ao sul e do nordeste ao norte, proporcionou a expansão e diversificação do agronegócio tocaninense, quer seja pelo extrativismo da madeira ou pela produção de soja, milho, arroz, frutas, bovinos, peixes e, recentemente, cana de açúcar (SILVA, 2007).

Apesar de apresentar discreta posição no ranking do PIB nacional, ocupando a 24ª posição e participando com 0,5% das riquezas produzidas no Brasil, o estado vem liderando nos últimos oito anos o crescimento acumulado do PIB (112,1%), totalizando mais de R\$ 28 bilhões de reais, com destaque para cana-de-açúcar, soja e comércio. O setor primário é responsável por 14% do PIB tocaninense, e deste, 20% são oriundos da atividade pecuária (TOCANTINS, 2017).

Em 1997, o estado foi declarado pela OIE (Organização Mundial de Saúde Animal) como área livre de Febre Aftosa, com vacinação, fato que agregou valor aos seus produtos cárneos e lácteos.

Como a expansão das áreas de pastagens têm sido obstaculizadas por restrições ambientais, o rebanho bovino, estimado atualmente em cerca de 8,8 milhões de cabeças, apresentou discreto crescimento nos últimos anos. É o décimo primeiro maior rebanho nacional, exportando 52 mil toneladas/ano, o que corresponde a US\$ 162 milhões. A melhora do status sanitário contribuiu para que a carne bovina passasse a corresponder a 20% do total das exportações do Estado (SEAGRO, 2016).

Considerando as crescentes imposições de barreiras sanitárias por parte de mercados consumidores internacionais, bem como visando assegurar a manutenção de contratos vigentes, ampliação de novos mercados e a melhora dos padrões sanitários dos rebanhos estaduais, os Serviços Veterinários Oficiais vêm se empenhando na prevenção de enfermidades exóticas e no controle e erradicação de importantes doenças endêmicas.

Dentre as doenças endêmicas que merecem atenção dos Serviços Veterinários Oficiais destaca-se a brucelose, pois além de ser uma zoonose, causa considerável prejuízo às cadeias produtivas da carne e leite.

Atualmente, o gênero *Brucella* é composto por 11 espécies com alguma especificidade de hospedeiro: bovinos e bubalinos são preferencialmente infectados por *Brucella abortus*, caprinos e ovinos por *Brucella melitensis*, suínos por *Brucella suis*, ovinos por *Brucella ovis*, cães por *Brucella canis*, rato do deserto por *Brucella neotomae*, camundongo do campo por *Brucella microti*, focas por *Brucella pinnipedialis* e golfinhos por *Brucella ceti*. Isolados de seio e pulmão humanos foram recentemente caracterizados como uma nova espécie, *Brucella inopinata* (Whatmore, 2009). As últimas quatro espécies foram descritas nos últimos 15 anos, após um longo período de estabilidade na taxonomia do gênero *Brucella* e significam uma expansão da gama de hospedeiros de *Brucella*, envolvendo inclusive animais aquáticos (Godfroid et al., 2011). Entre 2006 e 2007, Schlabritz-Loutsevitch et al. (2009) obtiveram isolados de dois casos de natimortalidade e retenção de placenta em babuíños (*Papio spp.*) de um centro de pesquisa de primatas no Texas, caracterizados por Whatmore et al. (2014) como *B. papionis* sp. nov.

Em bovinos, a brucelose é causada principalmente pela *Brucella abortus*, porém são também suscetíveis à *Brucella suis* e à *Brucella melitensis*, quando em contato estreito com suínos, caprinos e ovinos infectados, seus hospedeiros naturais (Acha e Szyfres, 2003). Os sinais clínicos mais importantes nos bovinos são os abortos no terço final da gestação e o nascimento de bezerros fracos (THOEN et al.,

1993; ACHA e SZYFRES, 2003), desencadeando aumento do intervalo entre partos, morte de bezerras, baixos índices reprodutivos, diminuição da produção de leite e carne e, conseqüentemente, importantes perdas econômicas (PAULIN; FERREIRA NETO, 2002).

Além das perdas econômicas, a brucelose bovina é uma clássica antropozoonose, causando doença em humanos principalmente através do contato direto com animais infectados e do consumo de leite e derivados produzidos sem tratamento térmico (PAULIN; FERREIRA NETO, 2002). Como os sintomas da infecção em humanos são inespecíficos, a prevalência da infecção humana é sempre subestimada. Dados sobre a quantificação da doença em humanos são raros. Godoy et al. (1977) reportaram 0,3% de reagentes à brucelose entre 9.360 doadores de sangue em Minas Gerais. Baruffa et al. (1978) relataram que a brucelose no Rio Grande do Sul era mais frequente em indivíduos da zona rural, acometia mais homens do que mulheres e que o consumo de queijo não pasteurizado seria a fonte de infecção mais importante. Em 1988, Homem et al. (2016) verificaram que 21% [13 - 31] dos núcleos familiares do município de Uruará, PA, apresentaram pelo menos um indivíduo positivo à sorologia para brucelose, com média de sororeatores de 23%.

Em função da importância da doença para as cadeias produtivas brasileiras de carne e leite e também de seu caráter zoonótico, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em 2001, instituiu o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT). Nessa mesma ocasião o MAPA, juntamente com os Serviços Veterinários Oficiais dos estados e o Centro Colaborador em Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP) iniciaram um grande esforço de caracterização epidemiológica da doença em todas as Unidades Federativas brasileiras. Até o momento, 18 Unidades Federativas já realizaram esses estudos, sendo que oito deles já o realizaram uma segunda vez para verificar a eficácia de seus programas de vacinação. Os resultados dos primeiros estudos são apresentados na Figura 1, com prevalências de focos variando de 0,32% [0,1 - 0,69] a 41,5% [36,5 - 44,7], respectivamente em Santa Catarina e Mato Grosso do Sul (ALVES et al., 2009; ALMEIDA et al., 2016; AZEVEDO et al., 2009; BORBA et al., 2013; CHATE et al., 2009; CLEMENTINO et al., 2016; DIAS et al., 2009a, 2009b; GONÇALVES et al., 2009a, 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).

Figura 1. Prevalência de focos de brucelose bovina no Brasil conforme resultados dos primeiros estudos padronizados pelo MAPA.

Fonte: Ferreira Neto et al. (2016).

Minas Gerais, Rondônia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, Rio Grande do Sul e São Paulo foram os estados que realizaram um segundo estudo para verificar o impacto de seus programas de vacinação na prevalência da brucelose bovina (BARDDAL et al., 2016; DIAS et al., 2016a; ANZAI et al., 2016; INLAMEA et al., 2016; LEAL FILHO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016; SILVA et al., 2016b). Santa Catarina também realizou um segundo estudo (BAUMGARTEN et al., 2016), porém com o propósito de verificar se a prevalência continuava muito baixa, nos níveis observados por SIKUSAWA et al. (2009) em 2001. Desses estados, apenas Minas

Gerias, Rondônia, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul lograram rebaixar as prevalências com bons programas de vacinação (FERREIRA NETO et al., 2016)

Em 2002/2003, o estado de Tocantins apresentou prevalência de focos de 21,2% [19,3 – 23,1%] e prevalência de animais de 4,4% [3,6 – 5,3%] (OGATA et al., 2009). Em função desses resultados foi recomendado que implementasse um programa de vacinação contra a brucelose, pois seria a forma mais racional de diminuir a prevalência. A Figura 2 traz as coberturas vacinais atingidas pelo estado desde 2004, com destaque para as coberturas vacinais superiores a 70% alcançadas a partir de 2010.

Figura 2. Cobertura vacinal com amostra B19 no estado de Tocantins de 2004 a 2017. Fonte: dados não publicados da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Tocantins (ADAPEC-TO)

Fonte: ADAPEC.

Tendo em vista o acima exposto, o presente estudo teve por objetivo verificar se o programa de vacinação contra brucelose bovina implementado pelo estado resultou em rebaixamento da prevalência. Adicionalmente, foram também estudados os fatores de risco associados à condição de foco de brucelose bovina no estado

2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi planejado por técnicos do MAPA, do Centro Colaborador em Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP) e da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Tocantins

(ADAPEC-TO), sendo esta última responsável pela execução do trabalho de campo, realizado no período de outubro de 2014 a agosto de 2015.

Inicialmente o estado foi dividido em regiões, considerando-se 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.

Dentro de cada uma dessas regiões sorteou-se, aleatoriamente, um número pré-estabelecido de propriedades com atividade reprodutiva (unidades primárias de amostragem). Este processo foi realizado com base no cadastro de propriedades mantido pela ADAPEC-TO. 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.

Amostras de sangue de todos os animais selecionados foram colhidas por punção da veia jugular, com agulha descartável estéril em tubo a vácuo previamente identificado. Os soros obtidos das amostras foram congelados a -20°C em microtubos de polipropileno até a realização dos testes. O protocolo do sorodiagnóstico foi composto de triagem com o teste do antígeno acidificado tamponado, seguido de teste confirmatório dos positivos com o teste de 2- Mercaptoetanol. Estes testes foram realizados pelo Laboratório Cernittas (São Luís, MA). A propriedade foi considerada positiva quando detectado pelo menos um animal positivo.

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 SPSS, versão 9.0.

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. Foi feita uma análise exploratória (univariada) para seleção daquelas com $p < 0,20$ para o teste do χ^2 (qui quadrado) ou exato de Fisher e subsequente oferecimento dessas à regressão logística, conforme preconizado por Hosmer; Lameshaw (1989). Os cálculos foram realizados com o auxílio do programa SPSS.

Todas as informações geradas pelo trabalho de campo e de laboratório foram inseridas em um banco de dados específico, utilizado nas análises epidemiológicas realizadas no Laboratório de Epidemiologia e Bioestatística (LEB) da FMVZ-USP.

3 RESULTADOS

A Figura 3 mostra a divisão do estado de Tocantins em cinco regiões.

Figura 3. Mapa do estado de Tocantins segundo as regiões do estudo: 1) Bico do Papagaio, 2) Araguaína, 3) Jalapão, 4) Central e 5) Sul. Em detalhe, a localização da Unidade Federativa no Brasil

Fonte: LEB/FMVZ-USP.

A Tabela 1 traz os dados censitários e amostrais para o estado de Tocantins.

A Tabela 2 mostra as prevalências de focos e de animais para brucelose bovina, bem como seus respectivos Intervalos de Confiança para cada uma das cinco regiões do estado.

A Tabela 3 traz as prevalências de focos de brucelose bovina estratificadas por tipo de exploração para cada região do estado do Tocantins.

A Tabela 4 mostra os resultados da análise multivariada para os fatores de risco identificados para brucelose bovina no estado.

Tabela 1. Dados censitários e amostrais do estudo da situação epidemiológica da brucelose bovina no estado de Tocantins, Brasil, 2014-2015.

Número da região	Nome da região	Nº propriedades com atividade reprodutiva	Nº fêmeas com idade ≥ 24 meses	Nº propriedades amostradas	Nº fêmeas com idade ≥ 24 meses amostradas
1	Bico do Papagaio	6.685	289.211	151	1.328
2	Araguaína	13.225	839.205	151	1.351

3	Jalapão	5.725	227.460	151	1.326
4	Central	13.128	845.629	153	1.399
5	Sul	15.256	1.276.413	150	1.442
Total		54.019	3.477.918	756	6.846

Fonte: VENDRAME et al.(2018)

Tabela 2. Prevalências de focos e de animais para brucelose bovina e respectivos intervalos de confiança (IC), segundo as regiões do estado de Tocantins. Brasil, 2014-2015.

Região	Animais				Propriedades			
	Testados	Positivos	Prevalência	IC 95%(%)	Testadas	Positivas	Prevalência	IC 95%(%)
1	1.328	10	0,26	0,06-0,70	151	9	5,96	3,11-11,13
2	1.351	12	1,79	0,17-6,80	151	9	5,96	3,11-11,13
3	1.326	6	0,47	0,06-1,64	151	5	3,31	1,37-8,78
4	1.399	13	1,42	0,30-4,05	153	9	5,88	3,07-10,99
5	1.442	23	3,77	1,44-7,91	150	13	8,67	5,07-14,43
Total	6.846	64	2,21	1,05-4,01	756	45	6,42	4,76-8,62

Fonte: VENDRAME et al.(2018)

Tabela 3. Prevalência de focos de brucelose bovina e respectivos intervalos de confiança (IC), estratificadas por tipo de exploração nas regiões do estado de Tocantins. Brasil, 2014-2015.

Região	Corte			Leite			Mista		
	Positivas / Testadas	Prevalência a (%)	IC 95% (%)	Positivas / Testadas	Prevalência a (%)	IC 95% (%)	Positivas / Testadas	Prevalência a (%)	IC 95% (%)
1	5/56	8,93	3,87-19,3	1/30	3,33	0,59-16,7	3/64	4,69	1,61-12,9
2	3/63	4,76	1,63-13,1	2/54	3,70	1,02-12,5	4/34	11,8	4,67-26,6
3	4/123	3,25	1,27-8,06	0/1	0	0-77,6	1/27	3,70	0,66-18,3
4	9/104	8,57	4,57-15,5	0/7*	0	0-31,2	0/42	0	0-6,73
5	12/123	9,76	5,67-16,3	0/6	0	0-34,8	1/21	4,76	0,85-22,7

*Se o número for zero, o intervalo de confiança (IC) foi calculado pela distribuição β e simulação de Monte Carlo.

Fonte: VENDRAME et al.(2018)

Tabela 4. Modelo final de regressão logística para brucelose bovina no estado de Tocantins. Brasil, 2014-2015.

Variáveis	Odds Ration	IC 95%	Significância (p)
Tamanho de rebanho $\geq$ 45 fêmeas com idade $\geq$ 24 meses	2,46	1,27 – 4,76	0,008
Aquisição de animais de reprodução em feiras/leilões	4,8	1,18 – 19,58	0,029

Fonte: VENDRAME et al.(2018)

4 DISCUSSÃO

A prevalência de focos de brucelose bovina no estado foi de 6,42% [4,76 – 8,62], não havendo diferenças entre as regiões (Tab. 2). O mesmo foi observado para

a prevalência nos animais, com exceção para a comparação entre as regiões 2 e 3 (Tab. 2). Embora as prevalências de focos sejam tendencialmente mais elevadas nas propriedades de corte e mistas quando comparadas às de leite, não houve diferença estatística entre as três tipologias (Tab. 3). Entretanto, é importante salientar que os intervalos de confiança calculados na Tabela 3 são bastante dilatados em função da pequena amostragem; por exemplo, na região 3 foi amostrada apenas 1 propriedade do tipo leite, originando um intervalo de confiança de 0% a 77,6%.

Em relação ao primeiro estudo de brucelose, realizado em TO entre fevereiro de 2002 a agosto de 2003, houve redução da prevalência de focos de brucelose bovina no estado de 21,22% [19,33 - 23,11] (OGATA et al., 2009) para 6,42% [4,76 - 8,62] no presente estudo (Tab. 2). Considerando as estimativas pontuais da prevalência nos animais, também houve redução de 4,43% [3,57 - 5,29] (OGATA et al., 2009) para 2,21% [1,05 - 4,01] no presente estudo, porém sem significância estatística. Essa redução da prevalência de focos foi consequência do bom programa de vacinação contra brucelose implementado pelo estado, que atingiu coberturas vacinais superiores a 70% desde 2010 (Figura 1), corroborando os resultados da modelagem matemática do impacto da vacinação na prevalência da brucelose publicados por Amaku et al. em 2009.

Assim, Tocantins juntou-se aos estados de Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Rondônia, que também lograram reduzir a prevalência de focos de brucelose através de bons programas de vacinação (BARDDAL et al., 2016; FERREIRA NETO et al., 2016; INLAMEA et al., 2016; LEAL FILHO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016).

A regionalização do estado foi alterada em relação ao primeiro estudo realizado em 2002/2003 (OGATA et al., 2009). Apenas as regiões do Bico do Papagaio e Araguaína foram mantidas, conforme indica a Figura 3. Assim, comparando as regiões que foram mantidas nos dois estudos, observa-se que houve redução nas prevalências de focos tanto no Bico do Papagaio quanto em Araguaína. Embora o valor pontual da prevalência de animais também tenha sido reduzido nessas duas regiões, apenas no Bico do Papagaio a diferença mostrou-se estatisticamente significativa entre o estudo de 2002/2003 e o de 2014/2015. Na região do Bico do Papagaio, a prevalência de focos, que era de 37,63 [32,08 - 43,43] em 2002/2003, foi reduzida para 5,96 [3,11 - 11,13] no presente estudo e a prevalência de animais foi de 8,54 [5,89 - 11,18] para 0,26 [0,06 - 0,70]. Em Araguaína, a prevalência de focos, que

era de 29,26 [24,26 – 34,66] em 2002/2003, foi reduzida para 5,96 [3,11 - 11,13] no presente estudo e a prevalência de animais foi de 6,40 [3,92 – 8,89] para 1,79 [0,17 - 6,80].

Figura 4. Regionalizações do estado de Tocantins adotadas nos estudos realizados em 2002/2003 (A) e 2014/2015 (B), referentes à situação epidemiológica da brucelose bovina.

Fonte: LEB/FMVZ-USP.

Considerando os últimos resultados de prevalência de focos de brucelose bovina para as Unidades Federativas que realizaram os estudos padronizados pelo MAPA e Centro Colaborador em Saúde Animal da FMVZ-USP, Tocantins tem a mesma prevalência de focos dos estados da Paraíba, Pernambuco, Espírito Santo, Rio Grande do Sul, Bahia, Distrito Federal e Paraná, prevalência de focos menor do que as dos estados de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Rondônia, São Paulo, Goiás, Rio de Janeiro, Sergipe e Maranhão e maior do que as apresentadas pelos estados de Santa Catarina e Minas Gerais (ALMEIDA et al., 2016; ALVES et al., 2009; ANZAI et al., 2016; BARDDAL et al., 2016; BAUMGARTEN et al., 2016; BORBA et al., 2013; CLEMENTINO et al., 2016; DIAS et al., 2009; DIAS et al., 2016; GONÇALVES et al., 2009; INLAMEA et al., 2016; KLEIN-GRUNNEWIEK et al., 2009; LEAL FILHO et al., 2016; OGATA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2016; ROCHA et al., 2009; SILVA et al., 2009; SILVA et al., 2016).

O modelo final da regressão logística multivariada mostrou que as propriedades com 45 ou mais vacas e comprar animais de reprodução em feiras e leilões estão associados à condição de focos de brucelose bovina.

A associação entre brucelose e o tamanho do rebanho já foi reportada por vários autores internacionais (KELLAR et al., 1976; NICOLETTI, 1980; SALMAN;

MEYER, 1984). Algumas características dos rebanhos maiores facilitam a transmissão da brucelose, especialmente o aumento da necessidade de reposição de animais (CRAWFORD et al., 1990; CHRISTIE, 1969). Assim, essa variável indiretamente sugere que a reposição de animais, praticada com maior frequência em rebanhos maiores, é a verdadeira causa da maior vulnerabilidade à doença. No Brasil, a mesma associação já foi verificada nos estados de Mato Grosso (NEGREIROS et al., 2009; BARDDAL, et. al., 2016), Mato Grosso do Sul (CHATE. Et. al., 2009; LEAL FILHO, et. Al., 2016), Rio de Janeiro (KLEIN-GUNNEWIEK et al., 2009), Sergipe (SILVA et al., 2009), São Paulo (DIAS, et. Al., 2009, 2016), Espírito Santo (ANZAI, et. al., 2016), Minas Gerais (OLIVEIRA, et. Al., 2016), Pernambuco (ALMEIDA, e. al., 2016), Rondônia (INLAMEA, et. al., 2016), Rio Grande do Sul (SILVA, et. al., 2016), Santa Catarina (BAUMGARTEN, et. al., 2016), Maranhão (BORBA et al., 2013) e também no primeiro estudo sobre brucelose bovina realizado em Tocantins entre 2002 e 2003 (OGATA et al., 2009). Ou seja, o tamanho do rebanho é diretamente proporcional a ocorrência, manutenção, disseminação e dificuldade de erradicação da Brucelose (CHRISTIE, 1969).

A introdução de reprodutores a partir de feiras e leilões têm o mesmo significado que a variável anterior, ou seja, a introdução de animais sem reais garantias de sua condição sanitária em relação à brucelose aumenta o risco de introdução da doença no rebanho.

5 CONCLUSÃO

5.1. O estado de Tocantins implementou um programa de vacinação contra brucelose bovina que resultou na redução da prevalência. A prevalência atual ainda pode ser diminuída se o estado perseverar na obtenção de coberturas vacinais elevadas, preferencialmente agregando qualidade ao processo, desde a comercialização até a inoculação dos animais. Além disso, recomenda-se estimular e difundir a utilização da RB51 para que a troca da população suscetível pela protegida ganhe velocidade e, consequentemente, impacte positivamente a redução da prevalência, conforme descrito por Souza et al. (2016).

5.2. O estado deve implementar uma forte ação de educação sanitária para que os produtores passem a testar os animais para brucelose antes de introduzi-los nos seus rebanhos.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis enfermedades transmissibles comunes al hombre los animales**. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2001. 398 p. (Publicación científica, 580).
- ALMEIDA, E. C.; FREITAS, A. A.; PONTUAL, K. A. Q.; SOUZA, M. M. A.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; TELLES, E. O.; HEINEMANN, M. B.; GONÇALVES, V. S. P.; EVÊNCIO NETO, J.; MARVULO, M. F. V.; GRISI-FILHO, J. H. H.; 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**, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3413-3424, 2016. Suplemento 2.
- 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**, Belo Horizonte, v. 61, p. 6-13, 2009. Suplemento 1
- 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**, Belo Horizonte, v. 61, p. 135-141, 2009. Suplemento 1.
- 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. An update on the epidemiological situation of bovine brucellosis in the state of Espírito Santo, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3437-3448, 2016. Suplemento 2.
- AZEVEDO, S. S.; FERREIRA NETO, J. S.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LOBO, 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**, Belo Horizonte, v. 61, p. 19-26, 2009. Suplemento 1.
- BARDDAL, 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.; HEINEMANN, M. B.; 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**, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3479-3492, 2016. Suplemento 2.

BARUFFA, G., Prevalência sorológica da brucelose na zona sul do Rio Grande do Sul (Brasil). **Revista Instituto de Medicina Tropical**, v.20, n.2, p.71-5, 1978.

BAUMGARTEN, K. D.; VELOSO, F. P.; GRISI-FILHO, J. H. H.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; TELLES, E. O.; HEINEMANN, M. B.; GONÇALVES, V. S. P.; FERREIRA NETO, J. S. Prevalence and risk factors for bovine brucellosis in Santa Catarina state, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3425-3436, 2016. Suplemento 2.

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, n. 2, p. 169-176, 2013.

CERQUEIRA, E.S. Agronegócio X Desenvolvimento: Espaços estratégicos do agronegócio no estado do Tocantins e o índice de desenvolvimento humano. **Revista Produção Acadêmica – Núcleo de Estudos Urbanos Regionais e Agrários/NURBA**, v. 2, n. 1, p. 05-32, 2016.

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**, Belo Horizonte, v. 61, p. 46-55, 2009. Suplemento 1.

CHRISTIE, T. E. Eradication of brucellosis in Northern Ireland: field problems and experiences. **Veterinary Record**, London, v. 85, n. 10, p. 268-269, 1969.

CLEMENTINO, I. J.; DIAS, R. A.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; TELLES, E. O.; HEINEMANN, M. B.; GONÇALVES, V. S. P.; GRISI-FILHO, J. H. H.; FERREIRA NETO, J. S.; ALVES, C. J.; SANTOS, C. S. A. B.; AZEVEDO, S. S. Epidemiological situation of bovine brucellosis in the state of Paraíba, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3403-3412, 2016. Suplemento 2.

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

DEAN, A. G.; DEAN, J. A.; COULOMBIER, D.; BRENDEN, K. A.; 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 public health on IBM-compatible microcomputers. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 1996. 595 p.

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**, Belo Horizonte, v. 61, p. 66-76, 2009a. Suplemento 1.

DIAS, R. A.; BELCHIOR, A. P. C.; FERREIRA, R. S.; GONÇALVES, R. C.; AGUIAR, R. S. C. B.; SOUSA, P. R.; SANTOS, A. M. A.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; TELLES, E. O.; GRISI-FILHO, J. H. H.; HEINEMANN, M. B.; 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**, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3505-3518, 2016. Suplemento 2.

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**, Belo Horizonte, v. 61, p. 118-125, 2009b. Suplemento 1.

DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. **Methods in epidemiologic research**. Charlottetown: University of Prince Edward Island, 2003.

FERREIRA NETO, J. S.; SILVEIRA, G. B.; ROSA, B. M.; GONÇALVES, V. S. P.; GRISI-FILHO, J. H. H.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; HEINEMANN, M. B.; TELLES, E. O.; LAGE, A. P. Analysis of 15 years of the National Program for the Control and Eradication of Animal Brucellosis and Tuberculosis, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3385-3402, 2016. Suplemento 2.

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

GODFROID, J.; SCHOLZ, H. C.; BARBIER, T.; NICOLAS, C.; WATTIAU, P.; FRETIN, D.; WHATMORE, A. M.; CLOECKAERT, A.; BLASCO, J. M.; MORYION, I.; SAEGERMAN, C.; MUMA, J. B.; ALDAHOUK, S.; NEUBAUER, H.; LETESSON, J. J. Brucellosis at the animal/ecosystem/human interface at the beginning of the 21st century. *Prev. Vet. Med.* 102, 2011.

GODOY, A. M.; BARG, L.; TAVARES, J. Pesquisa de aglutininas anti-Brucella abortus em soros de doadores de sangue em Minas. *Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais*, v.29, p.165–169, 1977.

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.; LOBO, J. R. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 35-45, 2009a. Suplemento 1.

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.; LOBO, J. R.; BORGES, J. R. J. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Distrito Federal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 14-18, 2009b. Suplemento 1.

HOMEM, V. S. F.; HEINEMANN, M. B.; HIGA, Z. M. M.; FERREIRA NETO, J. S. Bovine and human brucellosis in the Trans-Amazonian agricultural frontier, Uruará, Pará, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3803-3808, 2016. Suplemento 2.

HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S. Applied logistic regression. Hoboken: Wiley, 2000. v. 2, p. 528.

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 Rondonia, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3493-3503, 2016. Suplemento 2.

KELLAR, J.; MARRA, R.; MARTIN, W. Brucellosis in Ontario: a case control study. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, Ottawa, v. 40, n. 2, 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**, Belo Horizonte, v. 61, p. 77-84, 2009. Suplemento 1.

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.; HEINEMANN, M. B.; FERREIRA NETO, J. S. Control of

bovine brucellosis from 1998 to 2009 in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil.

Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3467-3478, 2016. Suplemento 2.

MARVULO, M. F. V.; FERREIRA, F.; DIAS, R. A.; AMAKU, M.; GROFF, A. C. M.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LOBO, 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, Belo Horizonte, v. 61, p. 93-102, 2009. Suplemento 1.

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

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

OGATA, R. A.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LOBO, 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**, Belo Horizonte, v. 61, p. 126-134, 2009. Suplemento 1.

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. P. Seroprevalence and risk factors for bovine brucellosis in the State of Minas Gerais, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3449-3446, 2016. Suplemento 2.

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

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.; LOBO, J. R.; BRITO, L. A. B. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Goiás. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 27-34, 2009. Suplemento 1.

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

SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH, N. E.; WHATMORE, A. M.; QUANCE, C. R.; KOYLASS, M. S.; CUMMINS, L. B.; DICK JUNIOR, E. J.; SNIDER, C. L.; CAPPELLI, D.; EBERSOLE, J. L.; NATHANIELSZ P. W.; HUBBARD, G. B. A novel Brucella isolate in association with two cases of stillbirth in non-human primates – first report. **Journal of Medical Primatology**, v. 38, p.70–73, 2009.

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. Situação epidemiológica da brucelose bovina no estado de Santa Catarina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 103-108, 2009. Suplemento 1.

SILVA, A. R. P.; ALMEIDA, M. G. O agronegócio e o estado do Tocantins: o atual estágio de consolidação. **Caminhos de Geografia**, Uberlândia, v. 8, n. 21, p. 28 – 45, 2007.

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 State, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3519-3530, 2016. Suplemento 2.

SILVA, V. G. S. O.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; COSTA, E. L. S.; LOBO, 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**, Belo Horizonte, v. 61, p. 109-117, 2009. Suplemento 1.

SOUZA, V. A. F.; FERREIRA NETO, J. S.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; TELLES, E. O.; GRISI-FILHO, J. H. H.; HEINEMANN, M. B.; FERREIRA, F. Mathematical modeling of bovine brucellosis control using the RB51. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3767-3776, 2016. Suplemento 2.

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

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

TOCANTINS. Secretaria da Agricultura . *Pecuária*. Disponível em < TOCANTINS. Secretaria de Planejamento e Orçamento. *Indicadores socioeconômicos do Estado do Tocantins*. Disponível em < <https://seagro.to.gov.br/pecuaria/>> Acessado em: 25 jun. 2018.

TOCANTINS. Secretaria de Planejamento e Orçamento. *Indicadores socioeconômicos do Estado do Tocantins*. Disponível em <<https://central3.to.gov.br/arquivo/414142/>> Acessado em: 25 out. 2018.

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

VINHAL, M. C. B. **Colinas do Tocantins**: desenvolvimento e transformações ambientais. 2009. p. 94. Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente e Sustentabilidade na Amazônia/Universidade Federal do Amazonas- Manaus, 2009.

WHATMORE, A. M. Current understanding of the genetic diversity of *Brucella*, an expanding genus of zoonotic pathogens. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 9, p.1168–1184, 2009.

WHATMORE, A. M.; DAVISON, N.; CLOECKAERT, A.; AL DAHOUK, S.; ZYGMUNT, M. S.; BREW, S. D.; PERRETT, L. L.; KOYLASS, M. S.; VERGNAUD, G.; QUANCE, C.; SCHOLZ, H. C.; DICK, E. J.; HUBBARD, G.; SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH, N. E. *Brucella papionissp. nov.*, isolated from baboons (*Papio spp.*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v.64, p.4120–4128, 2014.--

**APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO E TABELA DE ANIMAIS
AMOSTRADOS**

BRUCELOSE E TUBERCULOSE EM BOVINOS E BUBALINOS - Estudo epidemiológico

01-Identificação: Município: _____ REGIÃO: _____ UF: _____ Proprietário: _____ Propriedade: _____ Código de cadastro no serviço de defesa: _____	03 – Código do rebanho no estudo (10 dígitos) <div style="border: 1px solid black; height: 15px; width: 100%;"></div>
02 – Data da colheita sangue/inoculação tub. e da leitura tub.: ____/____/____ e ____/____/____	04 – Coordenadas Lat ____° ____' ____" Lon ____° ____' ____" Altitude _____

05- Tipo da Exploração: ☐ corte ☐ leite ☐ mista
06- Tipo de Criação: ☐ confinado ☐ semi-confinado ☐ extensivo
07- Nº de Ordenhas por dia (apenas leite e mista): ☐ 1 ordenha ☐ 2 ou 3 ordenhas ☐ Não ordenha
08- Tipo de Ordenha (apenas leite e mista): ☐ manual ☐ mecânica ao pé ☐ mecânica em sala de ordenha ☐ Não ordenha
09- Produção de leite (apenas leite e mista): a) Nº de vacas em lactação: _____ b) Produção diária de leite na fazenda: _____ litros
10- Usa inseminação artificial? ☐ não ☐ usa inseminação artificial e touro ☐ usa só inseminação artificial
11- Raça predominante - Bovinos: ☐ zebu ☐ europeu de leite ☐ europeu de corte ☐ mestiço ☐ outras raças
- Bubalinos: ☐ murrh ☐ mediterrâneo ☐ carabao ☐ jaffarabadi ☐ outras raças

12(a)- Bovinos existentes									12(b)- Bubalinos existentes								
Machos Castrados	Machos inteiros (meses)				Fêmeas (meses)				Machos Castrados	Machos inteiros (meses)				Fêmeas (meses)			
Total	0-6	6-12	12-24	> 24	0-6	6-12	12-24	> 24 de reprod.	Total	0-6	6-12	12-24	> 24	0-6	6-12	12-24	> 24

13- Outras espécies domesticas na propriedade: ☐ ovinos/caprinos ☐ equídeos ☐ suínos ☐ aves de quintal ou comerciais ☐ cão ☐ gato
14- Espécies silvestres em vida livre na propriedade: ☐ não tem ☐ cervídeos ☐ capivaras ☐ felídeos ☐ marsupiais (gambá) ☐ macacos
☐ outros mamíferos:.....
15- Alguma vaca/búfala abortou nos últimos 12 meses? ☐ não ☐ sim ☐ não sabe
16- O que faz com o feto abortado e a placenta? ☐ enterra/joga em fossa/queima ☐ alimenta porco/cão ☐ não faz nada
17- Faz testes para diagnóstico de brucelose? ☐ não ☐ sim, **regularidade dos testes:** ☐ uma vez ao ano ☐ duas vezes ao ano ☐ quando compra animais
☐ qd. há aborto na fazenda ☐ qd. exigido para trânsito/eventos/crédito
18- Faz testes para diagnóstico de tuberculose? ☐ não ☐ sim, **regularidade dos testes:** ☐ uma vez ao ano ☐ duas vezes ao ano ☐ quando compra animais
☐ qd. exigido para trânsito/eventos/crédito
19- Nos últimos 2 anos houve introdução de bovinos ou bubalinos? ☐ não ☐ sim
Onde/de quem: ☐ em exposição ☐ em leilão/feira ☐ de comerciante de gado ☐ diretamente de outras fazendas
20- Introduziu fêmeas ou machos (bovinos ou bubalinos) com finalidade de reprodução? ☐ não ☐ sim
Onde/de quem: ☐ em exposição ☐ em leilão/feira ☐ de comerciante de gado ☐ diretamente de outras fazendas
21- Vende fêmeas ou machos para reprodução? ☐ não ☐ sim
A quem/onde: ☐ em exposição ☐ em leilão/feira ☐ a comerciante de gado ☐ diretamente a outras fazendas
22- Vacina contra brucelose com B19/RB51? ☐ não ☐ sim ☐ não sabe
23- Local de abate das fêmeas e machos adultos: ☐ na própria fazenda ☐ em estabelecimento sem inspeção veterinária
☐ em estabelecimento de abate com inspeção veterinária ☐ não abate
24- Aluga pastos em alguma época do ano? ☐ não ☐ sim
25- Tem pastos em comum com outras propriedades? ☐ não ☐ sim
26- Compartilha outros itens com outras propriedades? ☐ não ☐ sim, qual: ☐ insumos ☐ equipamentos ☐ funcionários
27- Existem na propriedade áreas alagadiças às quais o gado tem acesso? ☐ não ☐ sim
28- Existe na propriedade área(s) onde o gado permanece concentrado durante o dia ou à noite? ☐ não ☐ sim, qual: ☐ palafitas
☐ outra:.....
29- Tem piquete separado para fêmeas na fase de parto e/ou pós-parto? ☐ não ☐ sim
30- A quem entrega leite (apenas leite e mista)? ☐ cooperativa ☐ laticínio ☐ direto ao consumidor ☐ não entrega
31- Resfriamento do leite (apenas leite e mista): ☐ não faz ☐ faz, **como:** ☐ em resfriador ou tanque de expansão próprio ☐ em resfriador ou tanque de expansão coletivo
32- A entrega do leite é feita a granel (apenas leite e mista)? ☐ não ☐ sim
33- Produz queijo, manteiga ou outro lácteo na propriedade? ☐ não ☐ sim, **finalidade:** ☐ p/ consumo próprio ☐ p/ venda
34- Consome leite cru ou derivado lácteo produzido com leite cru? ☐ não ☐ sim
35- Tem assistência veterinária? ☐ não ☐ sim, **de que tipo?** ☐ veterinário da cooperativa ☐ veterinário particular
36- Alimenta bovinos com soro de leite bovino? ☐ não ☐ sim
37- Nos últimos 12 meses comprou bovinos/bubalinos: Nº de animais: De quantas fazendas?.....
38- Nos últimos 12 meses vendeu bovinos/bubalinos: Nº de animais: Para quantas fazendas?.....
39- Compartilha aguadas/bebedouros com animais de outra(s) propriedade(s)? ☐ não ☐ sim
40- Propriedade possui área para pouso de boiada em trânsito? ☐ não ☐ sim
41- Vacina contra brucelose é adequadamente conservada? ☐ não ☐ sim ☐ não respondeu/não vacina
42- Vacinação contra brucelose é corretamente executada? ☐ não ☐ sim ☐ não respondeu/não vacina
43- Classificação da propriedade? ☐ rural clássica ☐ aldeia indígena ☐ assentamento ☐ periferia urbana

NOME DO VETERINÁRIO _____ ASSINATURA _____

44- INFORMAÇÕES SOBRE OS ANIMAIS TESTADOS					45- TUBERCULINA														46- SOROLOGIA BRUCELOSE					
					TESTE							RETESTE							resultado pos: P neg: N	AAT pos: P neg: N	2-ME pos: P neg: N inc: I	FC pos: P neg: N	resultado pos: P neg: N inc: I	
					aviária			bovina			$\Delta B - \Delta A$	aviária			bovina			$\Delta B - \Delta A$						
n.	identificação do animal/brinco	espécie bov: 1 bub: 2	idade anos	B19 sim: 1 não: 2 /ano	A0	A72	A72-A0 (ΔA)	B0	B72	B72-B0 (ΔB)			A0	A72	A72-A0 (ΔA)	B0	B72		B72-B0 (ΔB)					
1																								
2																								
3																								
4																								
5																								
6																								
7																								
8																								
9																								
10																								
11																								
12																								
13																								
14																								
15																								
16																								
17																								
18																								
19																								
20																								

interpret. tub.	
$\Delta B - \Delta A$	resultado
$\leq 1,9$ mm	negativo
2,0 a 3,9 mm	inconclusivo
$\geq 4,0$ mm	positivo

44- INFORMAÇÕES SOBRE OS ANIMAIS TESTADOS					45- TUBERCULINA														
					TESTE							RETESTE							resultado pos: P neg: N
					aviária			bovina			ΔB-ΔA	aviária			bovina			ΔB-ΔA	
n.	identificação do animal/brinco	espécie bov: 1 bub: 2	idade anos	B19 sim: 1 não: 2 /ano	A0	A72	A72-A0 (ΔA)	B0	B72	B72-B0 (ΔB)		A0	A72	A72-A0 (ΔA)	B0	B72	B72-B0 (ΔB)		
21																			
22																			
23																			
24																			
25																			
26																			
27																			
28																			
29																			
30																			
31																			
32																			
33																			
34																			
35																			
36																			
37																			
38																			
39																			
40																			

interpret. tub.	
$\Delta B - \Delta A$	resultado
$\leq 1,9$ mm	negativo
2,0 a 3,9 mm	inconclusivo
$\geq 4,0$ mm	positivo