



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

BRUCELOSE DOS PEQUENOS RUMINANTES:  
ESTUDO DE FOCOS NA ÁREA ADMINISTRATIVA DA DIVISÃO DE INTERVENÇÃO  
VETERINÁRIA DE VILA REAL

MARIANA DE OLIVEIRA LOBO FERNANDES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Carlos Manuel Lopes Vieira Martins

Doutor Fernando Jorge Silvano Boinas

Doutora Yolanda Maria Vaz

Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Oliveira Neves Figueiras

ORIENTADOR

Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Oliveira Neves Figueiras

CO-ORIENTADOR

Doutora Yolanda Maria Vaz

2012

LISBOA

---

## **Agradecimentos**

Gostaria de começar por agradecer à Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Figueiras e à Prof. Doutora Yolanda Vaz por me terem dado a oportunidade de trabalhar num tema tão interessante quanto importante e pela orientação e conhecimento transmitido na realização desta dissertação.

A todos os que trabalham na DIV de Vila Real em Chaves, um profundo agradecimento pela forma inesquecível como fui recebida e apoiada: ao Dr. João Nuno e à Dra. Paula Silva e aos Srs. Carlos Paradela, José Figueira, Luís Gonzaga, Jorge Santos, Francisco Batalha, Albano Morais, Armindo Santos e Carlos Freitas por todos momentos de aprendizagem e de camaradagem. Um especial agradecimento ao Dr. Tiago Neto por toda a ajuda directa que me disponibilizou, pela paciência e amizade.

A todos os que trabalham na OPP Bons e Valentes: Dr.<sup>a</sup> Olinda Chaves e Sr.<sup>a</sup> Anabela, pela simpatia com que me receberam, e especialmente o Sr. José Augusto, Sr. José Chaves, Sr. Fiúza e Sr. Aniceto com quem tive o privilégio realizar as saídas de campo.

Ao Dr. Telmo Nunes pela introdução aos SIG e ajuda que proporcionada na construção e interpretação dos mapas.

Aos meus pais agradeço a educação que me proporcionaram, os valores que me transmitiram e por me terem dado a liberdade de fazer as minhas escolhas. Ao meu pai um especial agradecimento pelo apoio e orientação na realização desta dissertação.

Finalmente, agradeço à Lia Duro, ao Nataniel Rosa e ao Tiago Breda, pela amizade incontestável e inabalável ao longo do meu percurso académico na FMV.

Ao Vitor Simões, pela paciência, dedicação e confiança, obrigada.



## Resumo

### BRUCELOSE DOS PEQUENOS RUMINANTES: ESTUDO DE FOCOS NA ÁREA ADMINISTRATIVA DA DIVISÃO DE INTERVENÇÃO VETERINÁRIA DE VILA REAL

A brucelose dos pequenos ruminantes é a zoonose com maior impacto em Portugal, sendo a região de Trás-os-Montes uma das zonas mais afectadas do país e sujeita a um programa de erradicação especial. Através da criação de uma base de dados, foram analisados 138 Inquéritos Epidemiológicos (IE) relativos a focos ocorridos em 2009 e 2010 na área administrativa da DIV de Vila Real, em Trás-os-Montes, Portugal. A análise dos IE e dos dados oficiais permitiu a determinação dos factores de risco mais importantes para as explorações em estudo, tendo-se verificado que o contacto com outros animais, o pastoreio em pastos contaminados, a aplicação de medidas de higiene e biossegurança insuficientes e a baixa taxa de vacinação das explorações foram os factores mais frequentemente registados e com maior importância relativa. Os IE demonstraram ainda as graves consequências económicas e para a saúde pública da brucelose. Neste momento, a erradicação da brucelose na área de Trás-os-Montes depende principalmente da colaboração dos produtores com os serviços veterinários e do cumprimento do programa de erradicação. Isto será apenas possível quando os produtores forem devidamente sensibilizados e compreenderem plenamente a importância da erradicação desta doença e o seu papel enquanto intervenientes fundamentais do programa.

**Palavras-chave:** Brucelose, Pequenos Ruminantes, DIV de Vila Real, Inquérito Epidemiológico, Factores de Risco



## **Abstract**

### **BRUCELLOSIS IN SMALL RUMINANTS: STUDY OF OUTBREAKS OCCURRED IN THE ADMINISTRATIVE AREA OF VILA REAL VETERINARY SERVICES**

Small ruminant brucellosis is a major zoonosis in Portugal. The region of Trás-os-Montes is one of the worst affected areas in the country and subject to a special eradication program. For the administrative area of Vila Real Veterinary Services (DIV de Vila Real), 138 epidemiologic inquiries (EI) related to disease outbreaks that occurred in 2009 and 2010 were analyzed through the construction of a data base. Analysis of EI and official data allowed for determination of the most important risk factors for the studied farms, revealing that contact with other animals, grazing on contaminated pastures, insufficient application of hygiene biosecurity and low vaccination rate were the most frequently reported factors and had the highest relative importance. The EI also demonstrated the serious economic and public health consequences of brucellosis. The eradication of brucellosis in the area of Trás-os-Montes depends mainly on the cooperation between farmers and veterinary services and the enforcement of the eradication program measures. This will only happen if farmers are properly sensitized and fully understand the importance of eradicating the disease, as well as their role as key players in the eradication program.

**Keywords:** Brucellosis, Small Ruminants, Vila Real Veterinary Services, Epidemiologic Inquiry, Risk Factors



## Índice Geral

Índice de Figuras .....	ix
Índice de Gráficos.....	ix
Índice de Tabelas .....	x
Lista de Abreviaturas e Siglas.....	xii
Parte I – Relatório de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária ....	1
Parte II – Revisão Bibliográfica .....	3
1 Brucelose – Generalidades.....	3
1.1 Introdução .....	3
1.2 Taxonomia do género <i>Brucella</i> .....	4
1.3 Hospedeiros .....	5
2 Brucelose dos Pequenos Ruminantes .....	6
2.1 Vias de transmissão .....	6
2.1.1 Infecções cruzadas entre espécies.....	6
2.1.2 Susceptibilidade .....	7
2.1.3 Fontes de infecção .....	7
2.1.4 Factores Geográficos, Climáticos e Antropológicos.....	8
2.1.5 Factores de risco e de protecção.....	9
2.2 Patogenia em Animais.....	10
2.3 Distribuição e Prevalência Mundial de brucelose em Humanos e Animais .....	11
2.4 Testes de Diagnóstico .....	13
2.4.1 Métodos bacteriológicos .....	14
2.4.2 Métodos serológicos.....	14
2.4.3 Outros testes .....	16
2.5 Consequências da brucelose.....	17
2.6 Prevenção, Controlo e Erradicação da brucelose em Animais.....	18
2.6.1 Requisitos essenciais para a implementação de um programa sanitário .....	18
2.6.2 Prevenção .....	19
2.7 Vigilância .....	28
3 Zoonose .....	30
3.1 Transmissão ao Homem.....	30
3.1.2 Prevenção da brucelose no Homem.....	34
3.2 Colaboração Intersectorial .....	35
3.3 Educação para a Saúde .....	35

4	Brucelose dos pequenos ruminantes em Portugal e em Trás-os-Montes.....	36
4.1	A brucelose dos pequenos ruminantes na região de Trás-os-Montes.....	38
4.2	Programa especial de erradicação para Trás-os-Montes.....	40
	Parte III – Estudo da Brucelose dos Pequenos Ruminantes na DIV de Vila Real .....	43
1	Caracterização da Divisão de Intervenção Veterinária de Vila Real.....	43
2	Estudo de Caso: Focos de Brucelose em Pequenos Ruminantes na D.I.V de Vila Real ...	44
2.1	Materiais e métodos.....	44
2.2	Resultados e discussão da análise dos dados oficiais sobre brucelose dos pequenos ruminantes na DIV de Vila Real (2006-2010) .....	47
2.3	Resultados de Inquéritos Epidemiológicos realizados entre 2009-11.....	58
2.3.1	Caracterização dos Efectivos Analisados .....	58
2.3.2	Maneio dos rebanhos .....	61
	PR – Pequenos Ruminantes.....	64
2.3.3	Higiene das instalações, ambiental e animal .....	72
2.3.4	Caracterização da Brucelose nas Explorações Estudadas .....	76
2.3.5	Análise do saneamento .....	79
2.3.6	Aspectos da Saúde Pública .....	83
2.3.7	Irregularidades no cumprimento do Programa de Erradicação da Brucelose ..	85
2.3.8	Origem da infecção.....	86
2.3.9	Consequências dos focos.....	88
2.4	Análise geral da presença de Factores de Risco conhecidos .....	88
3	Conclusões.....	95
	Bibliografia.....	100
	ANEXO I - Medidas de profilaxia e polícia sanitária do Programa Especial de Erradicação da Brucelose dos Pequenos Ruminantes para Trás-os-Montes.....	108
	ANEXO II – Normas para a Classificação Sanitária dos Efectivos Ovinos e Caprinos .....	109
	ANEXO III – Esquemas relativos à Obtenção, Manutenção e Subida dos Estatutos Sanitários.....	115
	ANEXO IV - Distribuição dos Inquéritos Epidemiológicos estudados por ano de realização e por Concelho/Freguesia.....	119
	ANEXO V – Inquérito Epidemiológico Brucelose dos Pequenos Ruminantes, Mod. 266/DGV .....	123
	ANEXO VI – Inquérito Epidemiológico Brucelose dos Pequenos Ruminantes, Mod. 836/DGV .....	131
	ANEXO VII – Material Complementar .....	135

## Índice de Figuras

Esquema 1 Programa Especial de Erradicação de Brucelose dos Pequenos Ruminantes para Trás-os-Montes. Os resultados do CFT estão expressos em USCEE .....	42
Figura 1.1 Concelhos administrados pela DIV de Vila Real (Distrito de Vila Real).....	43
Figura 2.1 Número de Explorações e Número de Animais nos concelhos administrados pela DIV de Vila Real. ....	48
Figura 2.2 Distribuição da percentagem geral de Explorações Positivas (A) e de Animais Positivos (B) por concelho. ....	52
Figura 2.3 Agredados de Explorações Positivas identificados em 2008, 2009 e 2010. ....	54
Figura 2.4 Gráfico de <i>Boxplot</i> e estatística descritiva relativos ao tamanho (número de animais) dos rebanhos.....	59

## Índice de Gráficos

Gráfico 2.1 Percentagem de explorações positivas (Prevalência) e de explorações novas positivas (Incidência) na DIV de Vila Real entre 2006 e 2010.....	47
Gráfico 2.2 Percentagem de explorações positivas na DIV de Vila Real, DSVRN e Nacional entre 2006 e 2010.....	50
Gráfico 2.3 Prevalência de animais positivos na DIV de Vila Real entre 2006 e 2010.....	50
Gráfico 2.4 Evolução da percentagem de explorações onde se procedeu à vacinação na DIV de Vila Real entre 2006 e 2010.....	55
Gráfico 2.5 Número de animais rastreados e de animais vacinados na DIV de Vila Real entre 2006 e 2010.....	55
Gráfico 2.6 Percentagem de animais positivos ao RBT (A) e ao FCT (B) na DIV de Vila Real entre 2006 e 2010.....	57
Gráfico 2.7 Número de Animais Positivos e de Animais Positivos Abatidos na DIV de Vila Real entre 2006 e 2010 .....	57
Gráfico 2.8 Composição dos 138 rebanhos estudados à data de realização do IE .....	58
Gráfico 2.9 Distribuição das explorações por número de animais no efectivo e classificação de acordo com o tamanho .....	60
Gráfico 2.10 Percentagem (Painel 1) e frequência de contacto com outros ruminantes (Painel 2) .....	64
Gráfico 2.11 Contacto com animais silváticos. O Painel 1 mostra a percentagem de explorações que tem contacto com animais silváticos e o Painel 2 descreve a frequência desse contacto.....	65

Gráfico 2.12 Espécies silváticas contactadas.....	66
Gráfico 2.13 Distribuição dos partos por estação do ano para os IE do Mod. n.º 266 da DGV .....	69
Gráfico 2.14 Classificação das explorações forma quanto à evolução da positividade dos rebanhos.....	77
Gráfico 2.15 Evolução do estatuto sanitário de 109 explorações. ....	78
Gráfico 2.16 Número de animais positivos por intervenção sanitária em 2009 e 2010 nas 138 explorações estudadas. ....	78
Gráfico 2.17 Intervalo de dias entre a obtenção do resultado da análise serológica e o abate do animal positivo (dias teste-abate).....	83
Gráfico 2.18 Contagem do número de causas possíveis para a introdução de Brucelose na exploração segundo a opinião dos proprietários das explorações sujeitas a IE. ....	86
Gráfico 2.19 Contagem do número de causas possíveis para a introdução de Brucelose nas explorações sujeitas a IE, segundo a opinião do Médico Veterinário que realizou o inquérito .....	87
Gráfico 2.20 Alterações produtivas nas explorações infectadas com Brucelose. ....	88
Gráfico 2.21 Distribuição da ocorrência dos factores de risco (FR) de acordo com a classificação de caso positivo .....	91
Gráfico 2.22 Distribuição das explorações onde ocorreram casos humanos de brucelose por classificação quanto à evolução da positividade dos rebanhos.....	93
Gráfico 2.23 Distribuição das explorações onde ocorreram casos humanos de brucelose por classificação quanto ao tamanho dos rebanhos.....	93
Gráfico 2.24 Relação entre os casos humanos identificados nos IE e actividades de risco praticadas pelos produtores.....	94

## Índice de Tabelas

Tabela 2.1 Distribuição dos IE analisados e actualizações de seguimento do foco por ano de realização e ano em que ocorreu o foco .....	45
Tabela 2.2 Diferença estatística anual e acumulada da prevalência e incidência de brucelose dos pequenos ruminantes no período de estudo (2006-2010) .....	49
Tabela 2.3 Composição da população por tipo de rebanho, dimensão média e presença de outras espécies.....	59
Tabela 2.4 Número de explorações de acordo com o tamanho e composição dos efectivos. .....	60
Tabela 2.5 Classificação e distribuição das explorações quanto ao regime de produção e à aptidão zootécnica dos animais .....	61

Tabela 2.6 Sistema de Ordenha utilizado pelas explorações .....	62
Tabela 2.7 Contactos com outras explorações e existência de risco de contacto .....	63
Tabela 2.8 Explorações com partilha de pastos e caminhos e presença de risco de transmissão de Brucelose (IE realizados em 2009) .....	63
Tabela 2.9 Presença de risco de transmissão de Brucelose durante o contacto com outros ruminantes, por espécie animal .....	64
Tabela 2.10 Situações de contacto com outros ruminantes. ....	65
Tabela 2.11 Origem dos animais que deram entrada nas explorações e risco de introdução da Brucelose através dessa entrada.....	67
Tabela 2.12 Caracterização da Exploração de Saída relativamente aos resultados do saneamento no ano em que o inquérito foi realizado.....	68
Tabela 2.13 Origem dos animais reprodutores. ....	69
Tabela 2.14 Distribuição do local onde ocorrem os partos (IE do Mod. n.º 266 da DGV).....	70
Tabela 2.15 Explorações que realizam o isolamento das fêmeas no período periparto .....	70
Tabela 2.16 Origem da água fornecida aos animais. ....	71
Tabela 2.17 Frequência de limpeza e de desinfeção dos currais (IE do Mod. n.º 266/DGV) .....	72
Tabela 2.18 Frequência de limpeza e desinfeção (IE do modelo n.º 836 da DGV, 2010)...	73
Tabela 2.19 Produtos utilizados na desinfeção das instalações.....	73
Tabela 2.20 Distribuição do número de explorações por frequência com que realizam a desinsectização das instalações.....	74
Tabela 2.21 Produtos utilizados na desinsectização.....	75
Tabela 2.22 Distribuição do número de explorações por frequência de desratização. ....	75
Tabela 2.23 Produtos utilizados na desratização. ....	75
Tabela 2.24 Classificação Sanitária das explorações sujeitas a IE no ano em que houve animais positivos (A) na altura da realização do IE (B). ....	76
Tabela 2.25 Distribuição do número de explorações por prevalência intra-rebanho. ....	79
Tabela 2.26 Intervenções sanitárias nas explorações foco no biénio 2009-2010: número médio de controlos e intervalo médio entre controlos .....	80
Tabela 2.27 Número de explorações que procederam à vacinação dos animais jovens no ano em que o inquérito foi feito e distribuição dessas explorações por OPP a que estão associadas.....	81
Tabela 2.28 Envio de amostras para o laboratório para análise bacteriológica e resultados	82
Tabela 2.29 Auto-consumo de leite, queijo e borregos ou cabritos. ....	84
Tabela 2.30 Venda de produtos de origem animal. ....	84
Tabela 2.31 Destino dos borregos e cabritos vendidos.....	85
Tabela 2.32 Irregularidades ao PEB. ....	85

Tabela 2.33 Número de factores considerados como causa de introdução de Brucelose nas explorações segundo a opinião do Médico Veterinário que realizou o inquérito.....	87
Tabela 2.34 Frequência de ocorrência dos factores de risco identificados através da análise dos IE. ....	90
Tabela 2.35 Frequência de ocorrência dos factores de protecção identificados através da análise dos IE. ....	91
Tabela 2.36 Frequência de ocorrência de actividades de risco para a saúde pública identificados através da análise dos IE. ....	92
Tabela 2.37 Número de explorações em que houve casos humanos. ....	92

### **Lista de Abreviaturas e Siglas**

DSVRN	Direcção de Serviços Veterinários da Região Norte
DIV	Divisão de Intervenção Veterinária
IE	Inquérito Epidemiológico
PISA	Programa Informático de Saúde Animal
OPP	Organização de Produtores Pecuários
PEB	Programa de Erradicação da Brucelose

# **Parte I – Relatório de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

O presente trabalho teve por base o conjunto de actividades realizadas no decurso do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, sob a orientação da Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Figueiras e co-orientação científica da Professora Doutora Yolanda Vaz.

O estágio decorreu na Direcção de Serviços Veterinários da Região Norte (DSVRN) – Divisão de Intervenção Veterinária de Vila Real (DIV de Vila Real), com sede em Chaves e teve a duração aproximada de cinco meses (4 de Outubro de 2010 e 25 de Fevereiro de 2011). A sua realização teve como objectivo principal a caracterização da brucelose nos efectivos de pequenos ruminantes na área administrativa desta DIV e compreender quais os principais factores de risco presentes nas explorações positivas para a brucelose.

Foram analisados os dados de todos os Inquéritos Epidemiológico (IE) realizados em 2009 e 2010, num total de 138 inquéritos. Em 2009 ocorreram 47 focos de brucelose na região administrativa da DIV de Vila Real, tendo sido realizados 80 IE nesse ano; em 2010, o número de focos de brucelose foi 61 e foram realizados 58 IE. Para a construção da base de dados foram consultados dados complementares registados no Programa Informático de Saúde Animal (PISA). A análise de dados teve ainda como objectivo contribuir para o reconhecimento da utilidade dos IE não só como ferramenta de gestão de foco, mas também como ferramenta de reconhecimento de tendências de evolução da doença e de auxílio aos decisores sanitários na interpretação da situação global da brucelose em determinada região. Esta visão global de dinâmica da doença torna-se fundamental para a definição de estratégias de prevenção e de ajustamentos do programa com vista à erradicação da brucelose.

De forma a melhor compreender a evolução temporal e avaliar o sucesso da implementação do plano de erradicação da brucelose dos pequenos ruminantes na região administrada pela DIV de Vila Real foram ainda analisados os dados referentes a esta doença a partir dos relatórios técnicos emitidos pelo PISA.net para o período 2006-2010.

Complementarmente a estas actividades, procedeu-se ao acompanhamento da Organização dos Produtores Pecuários (OPP) Associação de Criadores de Gado Bons e Valentes nas intervenções sanitárias consistindo em acções de identificação, vacinação, rastreio, reinspecção e epidemiovigilância dos animais em 24 explorações de pequenos ruminantes. Procedeu-se também ao acompanhamento de uma intervenção sanitária semelhante realizada pelos Serviços Veterinários Oficiais (DIV de Vila Real) a um produtor não associado a OPP. Foi possível acompanhar os Serviços Veterinários Oficiais na marcação e levantamento dos pequenos ruminantes para abate sanitário realizados numa

exploração e acompanhar dois Médicos Veterinários Oficiais na realização de dois Inquéritos Epidemiológicos.

No decorrer do estágio, para além das actividades inerentes ao tema em estudo e com o objectivo de melhor compreender a função de um Médico Veterinário dos Serviços Veterinários Oficiais, procedeu-se ao acompanhamento de acções de inspecção *ante-mortem* realizadas em três explorações de coelhos.

Finalmente, presenciou-se uma apresentação conjunta dos Serviços Veterinários Oficiais e da Unidade de Saúde Pública da Delegação de Saúde de Vila Real sobre brucelose no Estabelecimento Prisional Regional de Chaves, integrada numa campanha de sensibilização para a doença.

# Parte II – Revisão Bibliográfica

## 1 Brucelose – Generalidades

### 1.1 Introdução

A brucelose é uma doença antiga causada por bactérias do género *Brucella* e que afecta tanto espécies animais (principalmente espécies pecuárias mas também animais silváticos) como o Homem, caracterizando-se por apresentar baixa mortalidade e elevada morbidade. Nos humanos é também conhecida por “febre ondulante”, “febre Mediterrânica” ou “febre de Malta”, sendo o Homem um hospedeiro acidental pelo que a doença é, por definição, uma zoonose (doença que se transmite naturalmente dos animais para o Homem e vice-versa) (Corbel, 2006; World Health Organization [WHO]/Expert Committee with the participation of Food and Agriculture Organization [FAO], 1982). Com efeito, a infecção em humanos deve-se quase invariavelmente ao contacto directo ou indirecto com animais infectados e seus produtos, afectando pessoas de todos os grupos etários e de ambos os sexos (Corbel, 2006).

Existem referências Bíblicas a abortos em animais, alguns dos quais podem ter sido causados por brucelose. Em 1859, Marston descreveu uma doença cujos sintomas se assemelham aos da brucelose. O agente causal da brucelose, *Brucella melitensis*, foi identificado por Bruce em 1887 em Malta e em 1905, Zammit, um médico Maltês, demonstrou a natureza zoonótica de *B. melitensis* ao isolá-la em leite de cabra (Nicoletti, 2010). Bang, um veterinário Dinamarquês, isolou *B. abortus* em bovinos em 1897 e, em 1914, Traub isolou *B. suis* em suínos. Estas três espécies de *Brucella* causam a quase totalidade dos casos de brucelose em humanos (Crespo León, 1997). *B. melitensis* é responsável por mais de 90% dos casos em todo o mundo (Corbell, 1997). Capasso (2002) encontrou lesões típicas de brucelose em restos de esqueletos de pessoas mortas durante a primeira erupção vulcânica do Monte Vesúvio e demonstrou a presença de formas tipo coco morfológicamente consistentes com *Brucella* spp na análise de um queijo carbonizado por microscopia electrónica. Estes factos mostram que os organismos de *Brucella* spp. têm constituído uma preocupação zoonótica ao longo da História e que a doença humana sempre foi associada a um reservatório animal (doméstico ou silvático) de *Brucella* spp. (Godfroid, 2005).

## 1.2 Taxonomia do género *Brucella*

*Brucella* são cocobacilos gram-negativos, capazes de infectar muitas espécies de animais e o Homem. Estes agentes patogénicos intracelulares facultativos têm a capacidade de evasão às defesas do hospedeiro e aos agentes quimioterápicos (Nicoletti, 2010).

Actualmente são reconhecidas dez espécies de *Brucella* spp. As seis espécies “clássicas” são *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis* e *B. neotomae*. Foram reconhecidas e classificadas mais recentemente quatro novas espécies: *B. pinnipedialis* (2007), *B. ceti* (2007), *B. microti* (2008) e *B. inopinata* (2010) (Euzéby, 1997). Esta classificação tem por base as características feno-genotípicas de hospedeiro preferencial e patogenicidade dos organismos do género *Brucella*, consideradas como critérios importantes no delimitamento do género *Brucella* por Moreno, Cloeckert & Moriyón (2002). Com base em estudos de hibridização DNA-DNA, Verger, Grimont, Grimont & Grayon (1985) propuseram o agrupamento de 18 biovars em uma única espécie designada, por razões históricas, *B. melitensis*, tendo a proposta sido aprovada em 1988 (Corbel, 1988). No entanto esta classificação foi afastada em 2003 por razões pragmáticas (Osterman, 2003), já que a epidemiologia e, em menor escala, a gravidade da doença em humanos são influenciadas pelo tipo de organismo e a sua fonte (Corbel, 2006). Para Euzéby (1997), o facto de se reconhecer um género monoespecífico ou um género multiespecífico é uma questão de opinião taxonómica.

A hibridação DNA-DNA provou que a homologia entre as espécies do género *Brucella* spp. é superior a 95% e a maioria das diferenças genéticas consiste em Single Nucleotide Polymorphisms (SNP). A análise dos SNP pode ser promissora como futuro método para a genotipagem da brucelose e permitir o desenvolvimento de novas estirpes vacinais e de uma estirpe ideal para a preparação de antigénios/anticorpos que possam ser usados nos testes serológicos da brucelose (Sayan, Yumuk, Bilenoglu, Erdenlig & Willke, 2009).

Em 1994, foi descrita a primeira estirpe lisa de *Brucella* isolada a partir de um mamífero marinho, um feto abortado de roaz-corvineiro (*Tursiops truncatus*). Tratava-se de uma estirpe distinta das conhecidas até então (Ewalt, Payeur, Martin, Cummins & Miller, 1994). Jahans, Foster & Broughton (1997) caracterizaram outros organismos de *Brucella* isolados em focas (*Halichoerus grypus* e *Cystophora cristata*), golfinhos (*Lagenarhynchus actus* e *Stenella coeruleoalba*), toninhas (*Phocoena phocoena*) e lontras (*Lutra lutra*) e Clavareau et al. (1998) caracterizaram uma *Brucella* isolada numa baleia (*Balaenoptera acutorostrata*). O isolamento destes organismos em espécies com diferentes habitats sugere a sua larga distribuição (Jahans et al., 1997).

Cloeckert et al. (2001) identificaram polimorfismo genético a nível do locus *omp2* entre as estirpes isoladas nos mamíferos marinhos e as estirpes conhecidas nos animais terrestres, propondo a designação *Brucella ceti* (para estirpes cujos os hospedeiros preferenciais são cetáceos) e *Brucella pinnipedialis* (com focas como hospedeiros preferenciais).

Com excepção de *B. ovis* e *B. neotomae*, todas as espécies são patogénicas para o Homem (Blasco, 2010). Os biovares 4 e 5 de *B. suis* estão associados à infecção de renas e roedores, respectivamente. *B. canis* está associada à doença em cães e ocasionalmente causa doença em humanos. *B. ovis* causa uma infecção específica dos ovinos (Corbel, 2006). As espécies de *Brucella* spp. variam não só em patogenicidade, mas também nos sinais e sintomas clínicos provocados pela doença (Nicoletti, 2010).

### 1.3 Hospedeiros

As dez espécies actualmente classificadas do género *Brucella* e alguns dos seus biovares têm hospedeiros preferenciais, sendo *B. melitensis* a espécie com menos especificidade (Nicoletti, 2010). A nível mundial, as principais espécies patogénicas para os animais domésticos são: *B. abortus*, responsável pela brucelose em bovinos (*Bos taurus*); *B. melitensis*, o principal agente etiológico da brucelose dos ovinos (*Ovis aries*) e caprinos (*Capra hircus*); e *B. suis*, responsável pela brucelose nos suínos (*Sus scrofa domesticus*). *B. ovis* e *B. canis* são responsáveis pela epididimite do carneiro e pela brucelose nos cães (*Canis lupus familiaris*), respectivamente. As estirpes de *B. neotomae* foram isoladas nos ratos do deserto (*Neotoma lepida*) (Godfroid et al., 2005)

*Brucella* isoladas em mamíferos marinhos são representadas actualmente por isolados de cetáceos (golfinhos) ou de pinípedes (focas, leões-marinhos e morsas) (Euzéby, 1997). Outras espécies animais podem também ser infectadas por *Brucella* spp., incluindo bisontes, búfalos, camelos, cavalos, renas e iaques; têm menos importância, mas podem ser fontes de infecção significativas em algumas regiões (Corbel, 2006). Outros reservatórios incluem espécies silváticas, como o bisonte (*Bison bison*), veado (*Cervus elaphus*), javali e porcos selvagens [feral swine] (*Sus scrofa*), raposa (*Vulpes vulpes*), lebre (*Lepus europaeus*), rena (*Rangifer tarandus tarandus*), camurça (*Rupicapra rubicapra*) e íbex (*Capra ibex*) (Godfroid et al. 2005; Nicoletti, 2010). Em si, as espécies silváticas raramente mantêm a infecção, não sendo considerados um factor principal no controlo da brucelose (Nicoletti, 2010). A sua importância na epidemiologia da brucelose prende-se com o facto de constituírem um reservatório da doença para os animais domésticos, principalmente aqueles criados em regimes extensivos. Através de um estudo realizado em 2010, Muñoz et al. concluíram que os ruminantes selvagens não são uma potencial fonte significativa de infecção por *B. abortus* e *B. melitensis* para o gado doméstico em Espanha. No entanto, o facto de terem isolado *B. melitensis* num íbex ibérico demonstra a importância do estabelecimento de redes de vigilância passiva de espécies silváticas.

*B. melitensis* pode infectar camurças e íbex. Os camelos também podem ficar infectados, quando contactam com pequenos ruminantes infectados, e excretar o agente no leite, constituindo um sério perigo para a saúde pública (Godfroid, 2002).

Os animais marinhos, incluindo golfinhos, marsuínos e focas, podem representar perigo ocupacional para as pessoas expostas a tecidos infectados provenientes desses animais (Corbel, 2006).

É o facto de os organismos de *Brucella* poderem causar doença na quase totalidade dos animais domésticos e silváticos que condiciona em grande parte a sua enorme capacidade de difusão.

## **2 Brucelose dos Pequenos Ruminantes**

### **2.1 Vias de transmissão**

A epidemiologia da brucelose dos pequenos ruminantes varia consoante a espécie do hospedeiro afectada. Em ovinos e caprinos, *B. melitensis* é quase sempre a espécie infectante. *B. ovis* também pode infectar ovinos, mas tem pouco significado relativamente à doença humana (Corbel, 2006).

A transmissão entre animais ocorre como resultado do grande número de organismos excretados para o meio ambiente. Os pequenos ruminantes infectados por *B. melitensis* são perigosos para outros animais e para o Homem quando excretam a bactéria. As vias de excreção mais importantes (e mais relevantes do ponto de vista epidemiológico) de *B. melitensis* são através da placenta, fluidos fetais e corrimentos vaginais expelidos por animais infectados após o aborto ou o parto. A excreção também é comum a partir de secreções do úbere, do sémen e fezes (Maurin, 2005). Os pastos e os estábulos podem ficar contaminados e os organismos são adquiridos frequentemente por ingestão, mas a inalação, inoculação conjuntival, contaminação da pele, contaminação do úbere e contacto sexual também podem constituir vias de infecção. A transmissão entre explorações é facilitada pela partilha de pastos e caminhos por rebanhos que pertençam a diferentes explorações, pela compra de animais com origem em explorações com estatuto não indemne e pela partilha de machos reprodutores. A transumância, a mistura de animais em mercados e feiras, e a estabulação dos animais em espaços pequenos durante o Inverno também promovem a transmissão da doença (Corbel, 2006).

#### **2.1.1 Infecções cruzadas entre espécies**

Em muitos países em que se utilizam sistemas extensivos ou transumância, os pequenos ruminantes são criados juntamente com bovinos. Nestes sistemas de produção é frequente ocorrerem infecções cruzadas, especialmente por *B. melitensis*, com graves implicações económicas em explorações de leite e de saúde pública (Corbel, 2006; Blasco, 2010). *B. melitensis* surgiu em bovinos como um problema de saúde pública em alguns países mediterrânicos como consequência do consumo de leite não pasteurizado já que *B. melitensis* tem a capacidade de colonizar o úbere dos bovinos (Banai, 2002; Godfroid,

2005). A infecção por *B. melitensis* em bovinos ocorre quase exclusivamente quando esta infecção está presente em pequenos ruminantes, sendo por isso provável que a infecção não se mantenha em bovinos (Godfroid & Käsbohrer, 2002). Segundo Godfroid (2005), a implementação de medidas de controlo no hospedeiro principal (isto é, pequenos ruminantes), sem quaisquer medidas específicas adicionais aplicadas a bovinos (como a vacinação, por exemplo), poderão ser suficientes para resolver o problema, por remoção da fonte de infecção para bovinos.

Os camelos, iaques e búfalos também são infectados por *B. melitensis* quando são criados em sistema extensivo com ovinos e caprinos infectados ou quando partilham pastos com os mesmos. O seu leite é muitas vezes consumido sem ter sido tratado termicamente e constitui uma fonte de infecção para humanos. Para Blasco (2010), a aplicação de qualquer estratégia sanitária deve cobrir todas as espécies animais envolvidas no ciclo epidemiológico, dada a complexidade epidemiológica destas situações.

Os cães também podem adquirir uma infecção por *B. melitensis* a partir de ruminantes abortados, normalmente pela ingestão de materiais do aborto ou placentas. Depois podem excretar estas bactérias e constituir perigo para humanos e animais pecuários (Corbel, 2006).

### **2.1.2 Susceptibilidade**

A susceptibilidade para a brucelose é maior nos animais sexualmente maduros. Os animais jovens são muitas vezes resistentes apesar de ocorrerem infecções latentes e estes animais podem constituir um perigo quando atingem a idade adulta.

A raça também pode afectar a susceptibilidade, especialmente em ovinos. As raças ovinas de leite são muito susceptíveis a *B. melitensis*, enquanto as raças ocidentais ou europeias parecem ser bastante resistentes (Nicoletti, 2010). No entanto, o manejo dos animais é muito mais importante na determinação de factores de risco (Corbel, 2006).

*B. abortus* e *B. melitensis* podem ser transmitidas congenitamente nos ruminantes e a maioria das infecções latentes em bovinos ocorre por transmissão *in utero*. No caso dos pequenos ruminantes, apenas uma pequena percentagem de borregos e cabritos é infectada *in utero* e a maioria das infecções latentes por *B. melitensis* é provavelmente adquirida a partir do colostro ou do leite. O mecanismo de desenvolvimento das infecções latentes nos pequenos ruminantes ainda não é totalmente claro e, apesar de a sua ocorrência ser rara, representam uma grande dificuldade para os programas de erradicação da brucelose nestas espécies, já que os animais permanecem serologicamente negativos até ao primeiro parto ou aborto (Grilló, Barberán & Blasco, 1997).

### **2.1.3 Fontes de infecção**

A maioria das infecções nos animais resulta da ingestão da bactéria a partir de animais doentes ou de alimentos contaminados, mas também pode ser adquirida através de exposição respiratória e por contaminação de abrasões e feridas na pele e mucosas. Tanto

os fetos como os anexos fetais de fêmeas abortadas contaminam os estábulos, pastos, água, alimentos, etc., e são as principais fontes de infecção para outros animais e para o Homem, pois podem conter concentrações elevadíssimas de *Brucella* ( $10^{10}$ – $10^{13}$  bactérias/grama). O exsudado vaginal, urina, leite e sêmen de animais doentes são também importantes fontes de infecção. A transmissão à descendência durante partos naturais ocorre raramente em ovinos e caprinos (Crespo León, 1994; Corbel, 2006).

Os organismos de *Brucella* são extremamente resistentes no meio exterior, sobretudo em água e meios aquáticos (Plommet, 1986, citado por Crespo León, 1994). *Brucella* spp. podem sobreviver por longos períodos de tempo no pó, estrume, água, lama, fetos abortados, solo e laticínios. A duração precisa do tempo de sobrevivência depende de muitas variáveis como natureza do substrato, número de organismos, temperatura, pH, luz solar, presença de outros microrganismos contaminantes (Corbel, 2006). De uma forma geral, *B. melitensis* pode sobreviver no pó durante 3 a 44 dias e 29 dias no estrume, enquanto nas paredes e solo dos currais a baixas temperaturas pode permanecer viável até 4 meses. Sobrevive nos pastos, com exposição solar, durante 15 dias e 35 dias à sombra.

As fontes de água, como poços, também podem ser contaminadas por animais que tenham abortado recentemente ou por água de chuvas arrastada a partir de áreas contaminadas. A natureza da superfície contaminada pode influenciar a transmissão da doença, já que materiais porosos retêm grandes quantidades de bactérias enquanto que nas superfícies impermeáveis permanecem sobre a superfície e podem ser disseminadas pela acção da água quando se procede à sua limpeza.

Devido à considerável resistência de *Brucella* (tendo em conta que não é um microrganismo esporulado), há que ter em conta o risco sempre presente de novos focos de brucelose em explorações em que se aplicaram planos de erradicação (baseados em teste e abate de animais seropositivos), sem que se tenham tomado rigorosas medidas de higiene complementares (destruição de fetos e anexos fetais, limpeza e desinfecção dos estábulos, veículos, etc.) (Plommet, 1986, citado por Crespo León, 1999).

#### **2.1.4 Factores Geográficos, Climáticos e Antropológicos**

A estação do ano tem repercussões sobre o maneio e alimentação dos animais, especialmente em sistemas de produção que implicam a mistura e deslocação de rebanhos sãos e infectados (nomadismo, transumância, pastoreio), facilitando a transmissão da doença. A pluviometria condiciona o desenvolvimento e o estado nutritivo do pasto. Estes factores influenciam a reprodução dos animais criados em regimes extensivos e, conseqüentemente, a época de partos/abortos e a frequência de contágio humano. Também condiciona a época de vacinação, já que esta é restrita aos animais jovens de reposição (3-6 meses) em muitos planos de controlo de brucelose (Crespo León, 1994).

Crespo León (1994), citando Alton (1985), aponta para o facto de a difusão da doença entre regiões ou países seguir o movimento dos animais infectados. Também pode ocorrer

disseminação entre explorações através de animais silváticos e cães que ingerem e deslocam fetos e anexos fetais depois do aborto.

Em muitas regiões onde a brucelose é endémica pratica-se um tipo de agricultura que não ultrapassa as necessidades dos pequenos grupos de humanos (família, pequena população) que nela trabalham, ou seja, sem excedentes comerciais – “agricultura de subsistência” – na qual, na maioria dos casos, os ovinos e caprinos são criados em conjunto em regime extensivo (nomadismo, transumância e pastoreio). Os sistemas de produção intensivos são mais recentes do ponto de vista da História antropológica e os animais permanecem sempre no mesmo município, inclusivamente dentro da mesma exploração. Os factores epidemiológicos da brucelose relacionados com este tipo de sistema prendem-se com os movimentos não controlados dos animais e, em certo grau, a transmissão de *Brucella* em suspensão no pó por via aerógena em locais fechados (Crespo León, 1994).

Os mercados e feiras constituem o lugar ideal para a transmissão de doenças infectocontagiosas entre animais. Nos países mais desenvolvidos são alvo de rigorosas normativas legais e medidas de polícia sanitária para minimizar este risco. A intensificação da produção zootécnica e do comércio pecuário no mundo teve como consequência a transferência de animais, com consequente introdução e difusão de doenças, entre elas a brucelose (Crespo León, 1994).

### **2.1.5 Factores de risco e de protecção**

A infecção dos ovinos e caprinos é altamente contagiosa graças à patogenicidade de *B. melitensis* e a características do sistema de produção em que estes animais são criados (alta densidade dos rebanhos, partilha de pastos com rebanhos de outros produtores).

Reconhece-se que é mais provável os rebanhos grandes estarem infectados que os rebanhos pequenos (Robinson, 2003). Quanto maior for o rebanho, maior é a densidade de animais nos alojamentos, aumentando a exposição ao agente, especialmente após o parto ou aborto (Crowford 1990, citado por Megersa et al., 2011).

A prevalência da doença e a taxa de abortos aumentam com a prática de mistura de rebanhos, compra de animais a outras explorações (Matope, Bhebhe, Muma, Lund & Skjerve, 2011), trocas de animais entre vizinhos (especialmente trocas de machos jovens e sem respeito pelas restrições sanitárias) e elevada proporção de rebanhos seropositivos num espaço geográfico (Lithg-Pereira, Mainar-Jaime, Álvarez-Sánchez & Rojo-Vázquez, 2001).

Megersa et al. (2011) constataram que a doença é facilmente transmitida nas áreas onde predominam sistemas extensivos de produção, baseados em pastoreio e com alta mobilidade dos rebanhos, mistura de espécies num mesmo rebanho e em que ocorre partilha de pastos, caminhos e fontes de água. A mobilidade aumenta a probabilidade de contacto com outros rebanhos potencialmente infectados ou com animais silváticos

reservatórios da doença. A mistura de espécies num rebanho pressupõe um maior risco de transmissão da doença entre espécies.

A seroprevalência também pode aumentar com o número de animais sexualmente maduros e a idade do animal, como resultado da duração prolongada da resposta humoral nos animais infectados e exposição prolongada ao agente, especialmente em rebanhos onde as fêmeas gestantes não são separadas e constituem por isso uma fonte de infecção no momento do parto (Megersa et al., 2011).

Mainar-Jaime & Vázquez-Boland (1999) identificaram a “disponibilidade dos serviços veterinários” como o principal factor protector para a brucelose. Embora o “associativismo dos produtores” e a “idade jovem” e “educação” dos produtores estejam também associados a prevalências mais baixas de doença, a existência de um serviço veterinário organizado é determinante para o controlo eficaz da doença, mesmo na presença de más práticas de manejo nas explorações. Por outro lado, a desinfecção das explorações na frequência de 3 ou mais vezes por ano é indicado por Reviriego, Moreno & Domínguez (2000) como um importante factor de protecção. A baixa frequência de remoção de estrume e limpeza das instalações dos animais estão relacionados com o aumento da seroprevalência de brucelose (Mainar-Jaime & Vázquez-Boland, 1999).

## **2.2 Patogenia em Animais**

A brucelose animal é uma doença sub-aguda ou crónica e geralmente bem tolerada, mas responsável por abortos e infertilidade e tem um importante impacto económico no sector agropecuário (Maurin, 2005).

*Brucella* são agentes patogénicos intracelulares facultativos que conseguem sobreviver e multiplicar-se nas células fagocitárias do hospedeiro. Os mecanismos de evasão à morte intracelular ainda não são completamente compreendidos. Meador (1988) demonstrou, através de técnicas imunocitoquímicas e microscopia electrónica que *Brucella* têm uma predilecção especial pelos tecidos da placenta dos ruminantes, nas quais se multiplica activamente, provocando necrose e aborto nos últimos meses de gestação (Meador, Hagemoser & Deyoe, 1988).

Existem muitos aspectos técnicos da brucelose que dificultam os esforços feitos no sentido do controlo, nomeadamente o período de incubação variável, a incapacidade para identificar animais que mais tarde se tornaram seropositivos e a ocorrência de infecções latentes. A percentagem de latência em ovinos e caprinos é largamente desconhecida.

Os anticorpos humorais parecem ter algum papel na resistência à infecção, mas o principal mecanismo de defesa contra os organismos de *Brucella* é a imunidade medida por células, envolvendo a produção de linfócitos T citotóxicos e a activação de macrófagos, com a promoção da sua actividade bactericida através da libertação de citoquinas (gama

interferção e factor de necrose tumoral, por exemplo) pelos linfócitos T helper. O hospedeiro demonstra hipersensibilidade retardada aos antigénios de *Brucella* na pele.

Nos hospedeiros naturais a fase inicial da doença não é aparente. A infecção geralmente estabelece-se no tracto reprodutivo dos animais sexualmente maduros resultando sinais característicos, mas não específicos da brucelose, como placentite, seguida de aborto (geralmente no último terço da gestação) ou parto prematuro e retenção placentária nas fêmeas, e epididimite e orquite nos machos. Adicionalmente, a doença provoca diminuição da produção de leite devido à ocorrência partos prematuros e infertilidade. Os problemas de fertilidade são normalmente temporários e as fêmeas abortam apenas uma vez ou nem chegam a ser afectadas. As bactérias podem ser encontradas nos tecidos e fluídos associados à gestação (principalmente no útero, que fica muitas vezes permanentemente infectado no caso das cabras), no úbere e nos linfonodos relevantes (supramamário, íliaco interno e retro-faríngeo), resultando na excreção da bactéria em descargas genitais e no leite (que constitui a principal fonte de infecção para humanos). A artrite é uma complicação rara. A bacteriémia é intermitente e de curta duração (Corbel, 2006; Blasco, 2010).

A gravidade da doença depende de muitos factores como espécie de *Brucella* spp., idade, sexo, manejo produtivo (tamanho e densidade dos rebanhos, por exemplo) e vacinação prévia. Nos animais não vacinados os sinais clínicos (especialmente os abortos) são mais exuberantes e o número de organismos excretados é maior.

### **2.3 Distribuição e Prevalência Mundial de brucelose em Humanos e Animais**

Dada a existência de um forte vínculo entre os organismos de *Brucella* spp. e os animais placentados (especialmente ruminantes) e o carácter doméstico da maioria dos hospedeiros principais deste agente, Crespo León (1994) defende que o seu aparecimento e evolução filogenética podem estar relacionados com a civilização humana e a domesticação animal. Por um lado, a patogenicidade de *Brucella* está intimamente relacionada com o aparecimento e evolução de mamíferos placentados na Terra no período Triássico. Há 5 – 10 milhões de anos, *Brucella* spp. distribuía-se pelo continente Euroasiático, sendo os artiodáctilos os seus “hospedeiros primitivos” ou “ancestrais”. A separação geológica dos continentes cerca de 200 milhões de anos atrás implica a ausência de mamíferos placentados nas Américas e na Oceanía infectados por *Brucella*. A domesticação dos animais pelo Homem e as suas repercussões zootécnicas e comerciais estão na origem não só da maioria das espécies e biovars de *Brucella* e o seu equilíbrio com o hospedeiro, mas também de uma “distribuição secundária” (ou “zootécnica”) do agente. Esta distribuição coincide com as rotas comerciais e pecuárias entre a zona Mediterrânica e o Extremo Oriente (“Rota da Seda”) e, mais tarde, com os Descobrimentos, o continente Americano, onde foram introduzidos ovinos e caprinos e os seus tradicionais sistemas de exploração

extensivos. Hoje em dia a brucelose está difundida por extensas áreas do mundo, em muitas das quais é considerada endêmica.

A infecção por *B. melitensis* parece ocorrer naturalmente na região Mediterrânica, mas é uma infecção distribuída por todo o mundo. Actualmente o Canadá, os Estados Unidos da América, os países do Norte da Europa, o Sudeste Asiático, a Austrália e a Nova Zelândia encontram-se indemnes de *B. melitensis*. As estirpes mais frequentemente isoladas em pequenos ruminantes dos países Mediterrânicos e do Médio Oriente são *B. melitensis* biovars 1 e 3; estas estirpes não parecem ter diferenças epidemiológicas ou clínicas (Blasco, 2010). Nos países Mediterrânicos, por razões ainda desconhecidas, raramente se isola *B. abortus* nos casos humanos (Corbel, 2006).

Segundo Franco, Mulder, Gilman & Smits (2007), a brucelose continua a ser a zoonose bacteriana mais comum no mundo, com mais de meio milhão de casos por ano e uma prevalência superior a 10/100000. Globalmente, apesar dos bons resultados obtidos pela maioria dos países industrializados na erradicação ou controlo da brucelose bovina, esta continua a ter uma prevalência elevada em muitos países em vias de desenvolvimento. Mais preocupantemente, a brucelose dos pequenos ruminantes causada por *B. melitensis* (que frequentemente afecta também bovinos, camelos e búfalos quando criados em regime extensivo) continua a ser um grave problema tanto em países desenvolvidos como em países em vias de desenvolvimento, pois a sua prevalência mantém-se elevada e *B. melitensis* é altamente zoonótica, sendo mesmo o agente responsável pela vasta maioria dos casos humanos de brucelose no mundo (Blasco, 2010). A França constitui uma excepção, tendo alcançado sucesso recentemente (Nicolleti, 2010). Nos países ou áreas com condições sócio-económicas mais difíceis a brucelose está praticamente sempre presente onde existem pequenos ruminantes. Segundo Pappas, Papadimitriou, Akritidis, Christou & Tsianos (2006) para certas áreas endémicas, a relação entre a endemicidade da brucelose e a situação socio-económica da área pode ser inferida através do PIB, tendo ainda concluído que até em países mais desenvolvidos existe dificuldades na erradicação da brucelose e que as viagens internacionais resultam em muitos casos novos. Em alguns países tem havido re-emergência da doença. Além disso, é importante ter em consideração que a doença tem sido subdiagnosticada e subnotificada e que as bactérias do género *Brucella* podem ser usadas como agentes de bioterrorismo classe B.

No norte da Europa a maioria dos países são declarados oficialmente indemnes de brucelose dos pequenos ruminantes, mas a brucelose continua a ser um problema endémico no Chipre, Grécia, Portugal, Espanha e Itália, embora a prevalência total destes tenha vindo a diminuir desde 2004 (2, 58% em 2007 para 1,90% em 2009) graças a programas sanitários baseados na vacinação. Algumas regiões de Itália e de Portugal (Açores) são oficialmente indemnes (European Food Safety Authority [EFSA] & European Centre for Disease Prevention and Control [ECDC], 2009). A América do Norte e os países

do norte da União Europeia são indomnes da doença nos animais. No entanto, ocorrem alguns casos de brucelose em humanos, que estão principalmente relacionados com uma exposição ocupacional ao agente ou casos de importação da doença adquirida durante viagens internacionais ou através de alimentos infectados importados a partir de áreas endémicas (Pappas et al., 2006). Em algumas regiões, a brucelose em camelos devida a infecção por *B. melitensis* ou *B. abortus* é outra fonte de infecção importante para humanos. A verdadeira incidência da brucelose humana a nível mundial é desconhecida. Poucos estudos tentaram medir a prevalência da infecção humana, mas segundo Corbel (1997) a incidência em áreas onde a doença é endémica pode variar largamente de <0.01 a >200 por 100 000 habitantes. De um modo geral, as áreas geográficas afectadas por brucelose estão integradas em países em vias de desenvolvimento ou regiões menos favorecidas dos países desenvolvidos, onde o nível económico, sociocultural e grau de associativismo dos produtores são baixos, os serviços de saúde pública e veterinários e o laboratório para diagnóstico são insuficientes, existem carências sanitárias e escassa educação sanitária. Estas zonas sobrepõem-se a áreas geográficas com geoclimatologia adversa (clima mediterrânico, desertos, estepes), onde predomina a criação extensiva de ovinos e caprinos (Corbel, 1997).

## **2.4 Testes de Diagnóstico**

Os sinais de brucelose nos animais não são patognomónicos, pelo que o diagnóstico depende da demonstração da presença de *Brucella* spp. através do isolamento da bactéria, da detecção de antígenos ou material genético ou da demonstração de anticorpos específicos ou de uma resposta imune mediada por células.

O diagnóstico de brucelose nos animais deve ser realizado a nível do rebanho. Alguns animais infectados podem ter longos períodos de incubação, podendo permanecer serologicamente negativos durante um considerável período de tempo após a infecção. A detecção de um ou mais animais infectados é prova suficiente de que a infecção está presente no rebanho e que outros animais seronegativos podem estar em fase de incubação e representar, por isso, um risco.

De um modo geral os testes de diagnóstico podem ser agrupados em duas categorias: a demonstração da presença de organismos de *Brucella* e a detecção de respostas imunes aos seus antígenos.

A hipersensibilidade dérmica apenas indica uma exposição prévia do indivíduo ao organismo, e não necessariamente uma infecção activa, e pode também resultar da vacinação.

### **2.4.1 Métodos bacteriológicos**

O isolamento de *Brucella* é o *gold standard* para o diagnóstico e permite obter um diagnóstico definitivo, embora não se obtenham culturas positivas em todos os animais infectados. Por outro lado, nem sempre estão disponíveis os métodos e as instalações necessárias para realizar estas provas (a manipulação de *Brucella* em laboratório constitui um risco elevado e é essencial garantir níveis mínimos de segurança laboratorial). Os testes bacteriológicos podem ser úteis em estudos epidemiológicos e na monitorização do progresso de um programa de vacinação (Corbel, 2006).

#### **2.4.1.1 Esfregaços corados**

Os esfregaços de cotilédones placentários, descargas vaginais e conteúdo estomacal de fetos pode ser corado utilizando os métodos de Ziehl-Neelsen modificado e Kosters. A presença de grandes agregados de organismos intracelulares e fracamente álcool-ácido resistentes, com morfologia semelhante a *Brucella* constitui uma prova presuntiva de brucelose. É necessário ter em atenção que outros agentes infecciosos, como *Coxiella burnetii* ou *Chlamydia*, se assemelham a *Brucella* (Corbel, 2006).

#### **2.4.1.2 Cultura**

*Brucella* são excretadas em grande quantidade durante o parto e podem ser colhidas a partir de vários materiais: muco vaginal, placenta, conteúdo estomacal dos fetos, leite e fetos abortados, procedendo-se à sua cultura em meios de crescimento selectivos. Quando se procede ao isolamento de *Brucella* numa fase *post-mortem* (abate sanitário em matadouro) os materiais mais indicados são os linfonodos supramamário, ilíaco interno e retro-faríngeo, bem como o baço, úbere, testículos e útero grávido e lesões de artrite (Corbel, 2006; Blasco, 2010), sendo também possível o isolamento em leite e secreções genitais (SANCO, 2009). As espécies e biovares podem depois ser determinadas através da lise por bacteriófagos ou métodos serológicos, bioquímicos e moleculares (Office International des Epizooties [OIE], 2009).

As colónias bacterianas podem ser provisoriamente identificadas como *Brucella* com base nas suas propriedades e aparência, coloração Gram e aglutinação com um anti-soro positivo. Pode ser utilizado um método de identificação molecular por PCR se disponível, mas a identificação definitiva das colónias suspeitas deve ser feita através de técnicas disponíveis dos Centros de Referência para *Brucella* (OIE, 2009): Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), em França, para a União Europeia em geral (SANCO, 2009) e Laboratório Nacional de Investigação Veterinária – Instituto Nacional de Recursos Biológicos (LNIV-INRB), para Portugal (Directiva 64/432/CEE).

### **2.4.2 Métodos serológicos**

O método mais eficiente e económico para diagnóstico da brucelose animal consiste no rastreio de todas as amostras utilizando testes de diagnóstico rápidos e baratos com

sensibilidade suficiente para detectar uma grande proporção de animais infectados. As amostras positivas ao rastreio são depois testadas utilizando testes confirmatórios, mais sofisticados e específicos (Corbel, 2006).

Os testes de diagnóstico recomendados pelo Office International des Epizooties (OIE) para pequenos ruminantes são o teste de Rosa de Bengala (RBT) e o teste de Fixação do Complemento (CFT). O teste Indirect Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (i-ELISA) e o ensaio com fluorescência polarizada (FPA) também podem ser utilizados como testes de rastreio. A testagem do leite com o Milk Ring Test (MRT), largamente utilizado como teste de rastreio em bovinos, é ineficaz em pequenos ruminantes (OIE, 2009). Dada a inexistência de um teste com 100% de sensibilidade e de especificidade, está recomendada a realização de testes em série ou em paralelo (SANCO, 2009).

As grandes desvantagens associadas aos testes serológicos acima descritos são a sua incapacidade de diferenciação entre anticorpos vacinais e anticorpos resultantes de uma infecção natural – DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals) (Nicoletti, 2010) e a ocorrência de reacções falso-positivas, especialmente em países indemnes de brucelose. As reacções serológicas falso-positivas na brucelose animal estão largamente documentadas nos países membros da união Europeia virtualmente indemnes de brucelose animal e representam actualmente um dos principais problemas para as autoridades veterinárias (Godfroid & Käsbohrer, 2002).

Existe um grande investimento na investigação para o desenvolvimento de outros métodos com ênfase na simplicidade e na capacidade de DIVA.

#### **2.4.2.1 Teste de Rosa de Bengala (RBT)**

O RBT pertence ao grupo de testes de Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e é um teste simples, de fácil execução e não dispendioso (Corbel, 2006). A sua elevada sensibilidade cumpre os requisitos para a vigilância em áreas indemnes a nível do rebanho, mas sua baixa especificidade determina a ocorrência de reacções falso-positivas, especialmente devidas a *Yersinia enterocolitica* O:9. As amostras com reacção de aglutinação no RBT são por isso sujeitas um teste confirmatório como o CFT, cuja especificidade é superior. Assim, a utilização do RBT e do CFT em testes seriados permite obter um índice de performance adequado a programas de teste e abate (OIE, 2009).

#### **2.4.2.2 Teste de Fixação do Complemento (CFT)**

O CFT é complexo e oneroso, resultando num diagnóstico difícil, lento e caro, sendo de difícil aplicação em áreas endémicas e empobrecidas. De acordo com a OIE e com a legislação comunitária, este teste é utilizado como teste confirmatório ao RBT. No CFT pode ocorrer o fenómeno prozona, quando se testam soros com baixas diluições, ou podem ocorrer reacções “anti-complementares” que tornam o teste nulo, quando existem bactérias ou outros factores que fixem o complemento causando uma reacção positiva mesmo na

ausência do *Brucella*. Dadas estas limitações, Corbel (2006) defende que o CFT deva ser considerado um teste complementar e não confirmatório.

#### **2.4.2.3 Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)**

Os testes de ELISA (ELISA Indirecto – i-ELISA, e ELISA de Competição – c-ELISA) têm excelente sensibilidade e especificidade, são robustos, simples de executar e estão disponíveis sob a forma de kits comerciais, sendo mais adequados em laboratórios pequenos do que o CFT (Corbel, 2006). Estes testes ainda não foram devidamente validados para pequenos ruminantes, pelo que não podem ser utilizados como testes de pré-movimentação em trocas comerciais internacionais (OIE, 2009).

O c-ELISA é versátil e de fácil execução, não apresentando restrições à espécie animal a analisar (Corbel, 2006). Tem especificidade superior ao RBT e CFT, mas a sua sensibilidade inferior à do i-ELISA, ocorrendo assim reacções falso-positivas devido a reacções cruzadas (geralmente resultantes da presença de anticorpos contra *Y. enterocolitica* O:9), pelo que Weynants et al. (1996) sugere que este teste se mantenha como teste complementar e não seja utilizado como teste único.

#### **2.4.2.4 Ensaio de Fluorescência Polarizada (FPA)**

O ensaio de fluorescência polarizada (FPA) requer reagentes especiais e equipamento de leitura oneroso (Corbel, 2006), mas segundo Ramirez-Pfeiffer et al. (2007), o FPA é um teste barato e de fácil execução e útil no diagnóstico da brucelose caprina em áreas onde a prevalência é elevada (>2 - 4%) e a vacinação é generalizada. A sensibilidade e a especificidade do FPA superam a dos outros métodos e apresenta uma grande versatilidade: aumentando ou diminuindo o valor do cut-off, obtém-se maior ou menor sensibilidade ou especificidade, consoante o requerido em dada situação epidemiológica (Ramirez-Pfeiffer et al., 2007). Pode ser utilizado como teste de confirmação, em combinação com o RBT (em alternativa ao CFT) aumentando a especificidade do teste combinado para o diagnóstico de brucelose caprina. Tal como o ELISA, é ainda necessária a validação deste teste para pequenos ruminantes para que a sua utilização seja recomendada pela OIE (OIE, 2009).

### **2.4.3 Outros testes**

#### **2.4.3.1 Teste alérgico cutâneo**

A reacção cutânea da brucelina detecta a hipersensibilidade retardada aos antígenos de *Brucella*. Este teste pode ser utilizado como teste de rastreio ou complementar em rebanhos não vacinados, desde que se utilize um antígeno devidamente purificado e padronizado (OIE, 2009). A hipersensibilidade dérmica apenas indica uma exposição prévia do indivíduo ao organismo, e não necessariamente uma infecção activa, e podem ocorrer reacções falso-positivas em animais vacinados, pelo que os resultados devem ser sempre interpretados

tendo em conta os sinais clínicos, história e resultados dos testes serológicos ou bacteriológicos. Este teste tem utilidade na monitorização do estatuto dos rebanhos em áreas livres de brucelose.

#### **2.4.3.2 Testes de imunodifusão em gel (*native hapten-based gel precipitation tests - NH*)**

Marín, Moreno, Moriyón, Díaz, & Blasco (1999) recomendam o NH como teste confirmatório do RBT no diagnóstico de brucelose ovina quando se realiza a vacinação com Rev 1 dos rebanhos, já que a sua técnica de execução é mais fácil que os ELISAs e que o CFT.

## **2.5 Consequências da brucelose**

As consequências da brucelose têm principalmente duas frentes: o impacto económico e o impacto na saúde pública, constituindo um considerável problema social, especialmente em países pobres.

A brucelose, tal como outras doenças veiculadas pelos alimentos, causa morbilidade considerável nas populações em muitas partes do mundo. Além do sofrimento humano, esta doença é responsável por substanciais perdas sócio-económicas. É difícil medir as perdas económicas devido à doença em humanos, mas estas prendem-se com custos de assistência médica, tratamentos e hospitalizações e com a redução da produtividade, por absentismo, perda de rendimento e de mão-de-obra (Corbel, 2006).

O sector da produção alimentar sofre um grande impacto quando existe brucelose nos animais pecuários. Existem perdas económicas directas, relacionadas com a mortalidade, morbilidade, diminuição da produção zootécnica, infertilidade e redução da vida económica dos animais; e também indirectas, devido aos custos das indemnizações por abate obrigatório dos animais infectados, indemnizações colectivas, organização e desenvolvimento de programas sanitários e entraves ao comércio pecuário (Crespo León, 1994). Para além disso, a regulação veterinária internacional impõe restrições ao movimento e comércio de animais sempre que existe presença de *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis* nos efectivos animais de uma região ou num país, resultando em grandes perdas económicas para essas áreas geográficas (Godfroid, 2005).

O sector da saúde humana sofre enormes custos financeiros devido à ineficácia dos programas de controlo a nível do sector veterinário e beneficia financeiramente do controlo da doença nos animais. A contribuição económica do ministério da saúde tornaria o programa de controlo ou erradicação economicamente vantajoso (Roth et al., 2003).

Roth et al. (2003) estimaram um rácio médio de benefício-custo para a sociedade Mongol de 3.2 num cenário em que a incidência da doença era reduzida em 52% graças à vacinação massiva de animais pecuários.

## **2.6 Prevenção, Controlo e Erradicação da brucelose em Animais**

Dado que o controlo das infecções em humanos depende quase exclusivamente do controlo da doença em animais, a brucelose é principalmente uma responsabilidade veterinária. Além da protecção da saúde pública, o controlo da doença é importante para a economia da produção alimentar e o seu sucesso depende de vários factores: prevalência, tipo de regime produtivo praticado, identificação animal e vigilância, disponibilidade e qualidade de vacinas, disponibilidade de recursos (financeiros e humanos), autoridade legal, cooperação intersectorial e muitos outros (Nicoletti, 2010). Onde existe redução da brucelose nos animais, há uma redução concomitante da brucelose em humanos (Roth et al., 2003) e apesar de muitos dos aspectos desta doença em ovinos e caprinos permanecem desconhecidos, as ferramentas para diagnóstico e profilaxia disponíveis são suficientes para controlar a doença na maior parte do mundo (Blasco, 2010).

A tendência mundial para o aumento do comércio de animais e aumento das populações, juntamente com limite de recursos, torna o controlo da brucelose, e outras zoonoses, muito difícil em muitos países (MacKenzie, 2004; Corbel, 2006) e influenciam fortemente a escolha dos programas sanitários a implementar. Esses programas incluem medidas de controlo, erradicação e vigilância sólidas e proficientes e adaptadas a alterações da natureza da doença relacionadas com utilização de diferentes sistemas de manejo e produção (Godfroid et al., 2005).

### **2.6.1 Requisitos essenciais para a implementação de um programa sanitário**

Segundo Blasco (2010), o sucesso na erradicação da brucelose nos pequenos ruminantes depende em primeira instância da qualidade dos serviços veterinários e organizações administrativas envolvidas e não tanto em limitações das ferramentas disponíveis para diagnóstico e profilaxia. A brucelose dos pequenos ruminantes é, com efeito, um dos problemas sanitários mais graves e complexos com o qual os serviços sanitários têm de lidar (Crespo León, 1994). Independentemente do programa implementado para atingir o controlo ou erradicação da doença, é imprescindível que exista uma adequada organização dos serviços veterinários, já que qualquer estratégia sanitária exige um mínimo de capacidade, qualidade e organização dos serviços veterinários envolvidos (SANCO, 2009).

Se a organização dos serviços veterinários está garantida, a escolha da estratégia a aplicar deve ser decidida tendo em conta os recursos económicos disponíveis, o grau de envolvimento e cooperação dos produtores e a dispersão e prevalência da doença. Os custos económicos de uma estratégia sanitária são grandes e é necessário assegurar a disponibilidade e reserva de recursos financeiros para esse efeito. Estes recursos são fundamentais para a adequada indemnização dos produtores por animais seropositivos abatidos (garantindo a sua colaboração e incentivando a participação activa no programa).

Os custos das intervenções a realizar previstas pelo programa também devem ser totalmente cobertos pela administração pública envolvida (Blasco, 2010).

A adequada organização e envolvimento dos produtores são requisitos essenciais para o sucesso da mais simples estratégia de controlo, como a vacinação massiva. Assim, além da promoção de campanhas de sensibilização direccionadas aos produtores afectados, para que compreendam e colaborem com o programa sanitário, é imprescindível a implementação de indemnizações adequadas (valor de mercado real do animal abatido, subsídios para vacinação e custos operacionais). É impossível obter sucesso sem a participação activa dos produtores afectados (Blasco, 2010) e verifica-se que em muitos países onde a indemnização por animais abatidos está ausente, a cooperação dos produtores é muito reduzida (Nicoletti, 2010).

Os factores legais são importantes na promulgação e aplicação de leis e regulamentações e, idealmente, as associações de produtores devem participar no seu desenvolvimento, garantindo que sejam fundamentados cientificamente e entendidos como “user friendly” (e assim, mais provavelmente cumpridos) (Nicoletti, 2010).

## **2.6.2 Prevenção**

É quase sempre mais económico e prático prevenir a ocorrência de doenças que tentar controlá-las ou eliminá-las. As principais justificações para a prevenção da introdução de brucelose nas populações animais são os benefícios económicos e a protecção da saúde pública. No caso da brucelose, apesar de medidas de Saúde Pública como pasteurização do leite e educação para a saúde poderem ter vários graus de sucesso, o controlo da doença a nível dos animais tem um peso muito maior. Uma das medidas de prevenção mais importante é evitar o contacto com rebanhos de estatuto desconhecido ou confirmados como infectados, já que esta é uma das principais vias de transmissão da doença entre explorações.

Na selecção de animais de substituição, quer sejam comprados, trocados ou criados, é imprescindível certificar que estes têm origem em explorações livres de brucelose. Caso os animais não sejam provenientes de áreas geográficas circunscritas livres de brucelose, é necessário proceder a testes de pré-movimentação.

Duas das medidas mais importantes para a prevenção da brucelose são a biossegurança e higiene e a vacinação.

### **2.6.2.1 Implementação de medidas biossegurança e de higiene**

O objectivo da aplicação de medidas de higiene no controlo da brucelose animal é a redução da exposição dos animais susceptíveis ao agente, limitando a disseminação da brucelose. O sucesso da implementação destas medidas depende de vários factores como sistema de produção, tipo de instalações e grau de dedicação dos produtores (Corbel, 2006).

Uma das medidas de higiene mais importantes é o isolamento de animais infectados, especialmente aqueles que abortaram. As suas excreções e tecidos e as camas devem também ter acesso interdito ou, preferencialmente, serem destruídos por incineração ou enterrados em profundidade com cal em locais distantes de cursos de água. Como precaução, os animais gestantes devem ser separados do resto do rebanho no período peri-parto (Corbel, 2006; Nicoletti, 2010).

Os testes de pré-movimentação a nível local ou internacional são condição essencial na troca ou venda de animais, embora este procedimento seja muitas vezes difícil de implementar e de aceitar por partes dos proprietários dos animais (Nicoletti, 2010). Com efeito, os produtores estão muitas vezes pouco informados sobre a transmissão da doença e mostram relutância em aceitar recomendações sobre a sua prevenção, sendo muito difícil ou mesmo impossível implementar medidas de controlo durante longos períodos. Normalmente apenas o fazem para doenças emergentes (Corbel, 2006; Nicoletti, 2010).

Tantos os testes de pré-movimentação como a identificação individual dos animais, através de marca auricular, entalhes na orelha, tatuagem ou marcação electrónica, é essencial para o controlo do movimento animal (SANCO, 2009). Devem ser proibidos a venda e os movimentos não autorizados de animais de áreas infectadas para outras áreas. As importações para áreas livres de brucelose devem ser restritas a animais com origem em áreas livres de brucelose. O controlo do movimento animal é extremamente difícil nos sistemas de produção extensivos que realizam transumância e que podem chegar a atravessar fronteiras nacionais (Robinson, 2003; Corbel, 2006).

Outras medidas de higiene importantes incluem (Corbel, 2006):

- Lavagem e desinfecção dos locais onde ocorreram abortos ou partos infectados;
- Remoção diária do estrume ou chorume e armazenamento em área isolada até se tornar seguro por decomposição natural (o que pode levar cerca de um ano); alternativamente pode ser queimado ou imerso em desinfectante antes da sua eliminação;
- Utilização de rodilúvios com desinfectante para os veículos que entram e saem de explorações infectadas;
- Implementação de medidas para o controlo de roedores e insectos;
- Repovoação de explorações com novos animais 4 meses após as operações de limpeza e desinfecção.

No entanto Nicoletti (2010), considera que a desinfecção de áreas contaminadas é um factor que pode ter um impacto reduzido na redução da exposição, dada a variável taxa de sobrevivência dos organismos de *Brucella* spp.

Em muitos países, incluindo países desenvolvidos, os pequenos ruminantes são criados em condições semi-nómadas ou em regimes tradicionais baseados em sistemas extensivos. Nestes casos a aplicação das medidas de higiene mencionadas acima é difícil. Os esforços

devem ser concentrados na educação das populações sobre a natureza da doença e os seus modos de transmissão (Corbel, 2006). Um pasto que tenha albergado um rebanho infectado deve ficar vazio durante pelo menos 60 dias (SANCO, 2009).

### **2.6.2.2 Vacinação**

A maioria dos autores concorda que a vacinação é o método mais eficaz e prático na redução da incidência de brucelose (Nicoletti, 2010). É um método adequado para o controlo da infecção e deve ser o primeiro passo na eliminação da doença (SANCO, 2009), sendo muitas vezes o único método de controlo prático e económico (Blasco, 2010).

A vacinação dos animais contra a brucelose resulta na eliminação da doença clínica e na redução do número de organismos excretados pelos animais infectados. Além disso, os produtores aderem mais facilmente à vacinação como método de controlo do que à implementação de medidas de higiene e à remoção e abate dos animais seropositivos.

A vacinação deve ser acompanhada da marcação indelével dos animais, para que possam ser monitorizados não só relativamente à ocorrência de abortos induzidos pela vacinação, mas também para evitar a testagem serológica e a revacinação destes animais.

### **Vacinas para a brucelose dos pequenos ruminantes**

A vacina *B. melitensis* Rev 1 é uma vacina viva atenuada desenvolvida a partir de uma estirpe rugosa e é considerada a melhor vacina disponível na profilaxia da brucelose dos pequenos ruminantes. A Rev 1 é barata e altamente imunogénica, pelo que, embora a imunidade possa não ser completa em alguns animais, a vacinação elimina praticamente a brucelose clínica.

Recomenda-se a vacinação através da instilação conjuntival de um pequeno volume (30/50 microlitros) da dose individual padrão ( $1-2 \times 10^9$  UFC), conferindo uma imunidade semelhante à administração por via subcutânea, mas provocando uma resposta serológica muito mais reduzida e permitindo que a imunidade de rebanho seja rapidamente atingida com menores custos de aplicação (Blasco, 1997; Corbel, 2006). Blasco (1997) demonstrou que a contaminação ambiental é reduzida quando Rev 1 é administrada pela via conjuntival. A vacina deve ser apenas administrada a fêmeas sexualmente imaturas, já que a resposta serológica induzida pela vacinação de animais adultos com Rev 1, mesmo quando aplicada pela via conjuntival, é de intensidade e duração significativamente maiores que a resposta dos animais jovens. A produção de anticorpos pós-vacinais persistentes pode interferir com a interpretação dos testes de diagnóstico (Marín, Moreno, Moriyón, Díaz & Blasco, 1999).

Esta vacina pode causar abortos quando administrada na dose padrão a fêmeas gestantes, ocorrendo excreção da estirpe vacinal no leite de muitos animais (Crespo León, 1994). O período que antecede as cobrições, a época final dos partos e a lactação constituem as janelas de oportunidade óptimas para a vacinação massiva com Rev 1 (Blasco, 1997) uma

vez que placenta é mais susceptível à infecção por Rev 1 no meio termo da gestação (principal período crítico) (Zundel, Verger, Grayon & Michel, 1992).

Segundo Crespo León (1994), Al-Khalaf, Mohamad & Nicoletti (1992) e Scharp, Sultan Al Khalaf, Al Muhanna, Cheema & Godana (1999), os efeitos negativos anteriormente descritos podem ser minimizados com a redução da dose individual para  $10^3$ - $10^7$  UFC e/ou pela sua administração conjuntival. No entanto, Corbel (2006) e Blasco (2010) demonstraram que a aplicação de uma dose reduzida a fêmeas gestantes, mesmo por via conjuntival, continua a induzir taxas de aborto inaceitáveis, além de conferir um baixo grau de imunidade graças à produção de baixos títulos de anticorpos, que baixaram rapidamente.

As raças ovinas podem apresentar uma susceptibilidade superior aos efeitos secundários da Rev 1 que os caprinos (Crowther, Orphanides & Polydorou, 1977). A estirpe vacinal é resistente à estreptomicina, o antibiótico que, em combinação com a doxiciclina, proporciona a terapia mais eficaz contra a brucelose em humanos (Ariza et al., 2007).

Apesar de todos estes inconvenientes, a Rev 1 continua a ser a vacina de referência para a imunização de ovinos e caprinos (OIE, 2009). Esta vacina provou ser também eficaz na protecção do carneiro contra *B. ovis*, reduzindo significativamente o nível de infecção no rebanho através do desenvolvimento de uma resposta celular eficaz (Jiménez de Bagüés, Barberán, Marín & Blasco, 1995).

Têm sido desenvolvidas novas vacinas por mutagénesse ou engenharia genética, como vacinas mutantes rugosas (R) de *B. melitensis* (González et al., 2008; Barrio et al., 2009) e a vacina VTMR1 (Kahl-McDonagh et al., 2006). Estas vacinas não causam interferência com os testes serológicos clássicos (RBT, CFT), mas a sua protecção é bastante inferior à conferida pela Rev 1. As vacinas mutantes R demonstram ainda falta de segurança em fêmeas gestantes, sendo excretadas no leite de animais vacinados e tendo capacidade de infectar humanos.

Novas abordagens consistindo na construção de estirpes recombinantes com deleção de proteínas relevantes para o diagnóstico ou vacinas de DNA apresentam grande potencial. Por exemplo, a Rev1 com deleção do gene que codifica a proteína periplasmática BP26 (que pode ser utilizada como marcador diferencial) tem a mesma eficácia protectora que a Rev 1 em ovinos (Jacques et al., 2007), mas segundo (Grilló et al., 2009) os testes de diagnóstico diferenciais baseados nesta proteína mostraram ser muito limitados. Um estudo por Wang et al. (2011) indicou a vacina 16MΔvjbR (vacina deletada no gene *vjbR*, responsável pela virulência de *Brucella*) como potencial candidata para a imunização contra *B. melitensis*. Esta vacina conferiu uma protecção sólida em ratinhos e apresenta uma virulência residual reduzida. Como a proteína *vjbR* é um antígeno imunodominante, a vacina permitiu ainda a diferenciação serológica entre animais vacinados e infectados.

Até agora, nenhuma das vacinas de nova geração provou ser capaz de melhorar a imunidade ou de resolver completamente os problemas inerentes à vacina clássica Rev 1.

Assim, até ao desenvolvimento de novas vacinas, mais seguras e mais eficazes, a Rev 1 continua a ser a vacina de referência para a profilaxia da brucelose em ovinos e caprinos (Blasco, 2010).

### **Estratégias vacinais**

#### ***Vacinação massiva***

A vacinação massiva consiste na vacinação de todo o rebanho, incluindo fêmeas e machos adultos, e é muitas vezes a única estratégia aplicável e economicamente viável em países com serviços veterinários elementares e com recursos económicos limitados (Blasco, 1997). A sua aplicação permite obter uma redução muito significativa na prevalência de brucelose como comprovam estudos realizados por Al-Khalaf et al. (1992), sendo mesmo a medida mais eficaz em situações de elevada prevalência da doença (>10%), em explorações que recorrem a sistemas de produção extensivos (Blasco, 2010) ou em situações epidemiologicamente mais complexas com o envolvimento de hospedeiros secundários (como bovinos) (Al-Khalaf et al., 1992).

Para ser eficaz, esta estratégia vacinal tem de ser mantida pelo menos durante uma geração. A vacinação massiva baseia-se no facto de a longevidade dos ovinos e caprinos domésticos ser 5 a 6 anos, pelo que a vacinação confere imunidade vitalícia (Blasco, 1997). Com efeito, quando as estratégias de vacinação massiva são aplicadas com sucesso e mantidas ao longo do tempo, a doença fica eficazmente controlada e a prevalência desce para níveis mínimos. Podem depois ser aplicadas novas e mais avançadas estratégias com o objectivo da erradicação (Blasco, 2010).

Depois da primeira campanha de vacinação massiva aplicada a toda a população da unidade epidemiológica, e numa tentativa de minimizar os efeitos secundários da Rev 1, o programa deve continuar com a vacinação exclusiva dos jovens de substituição durante pelo menos 8 a 10 anos (Muñoz et al., 2008).

A produção de anticorpos vacinais persistentes por períodos prolongados ocorre numa pequena proporção dos animais vacinados; esta ocorrência aumenta com a idade de vacinação (Corbel, 2006). Para reduzir este problema, a vacinação pode ser aplicada apenas a animais jovens. No entanto, existem sérias dificuldades práticas na vacinação de 100% dos jovens em cada ano, e esta alternativa falha em controlar a brucelose até nas melhores condições sócio-económicas. Uma alternativa mais prática consiste na vacinação massiva a cada dois anos, sem vacinação dos animais jovens (Blasco, 2010).

A resposta serológica induzida por Rev 1 em animais adultos tem intensidade e duração elevadas (tanto maiores quanto maior for a idade do animal vacinado), sendo praticamente impossível discriminá-la de uma resposta induzida por infecção quando o teste é realizado pouco tempo após a vacinação. Além disso tendo em conta que os animais infectados não são abatidos mas sim mantidos em contacto com animais vacinados saudáveis, o ruído

serológico torna-se intenso e devido às respostas anamnéticas dos animais vacinados quando estes contactam com materiais infectados. O resultado de um estudo serológico é a existência de um maior número de animais reactivos após a vacinação (Blasco, 2010).

A vacinação deve ser acompanhada de identificação individual através de uma marca auricular (ou alternativa adequada) para a marcação dos animais vacinados. Esta medida facilita o seguimento do programa de controlo nos anos subsequentes, evitando a revacinação dos animais que estão marcados no ano seguinte (Muñoz et al., 2008). Infelizmente as marcas auriculares não são ideais para uma identificação permanente dos animais, são onerosas (em alguns casos o custo das marcas auriculares excede o da vacina) e pode ser causa de míases quando implementada em climas quentes (Blasco, 2010).

### ***Vacinação de jovens***

A vacinação dos jovens caracteriza-se por ser um método totalmente inócuo e sem efeitos adversos relevantes e permite a imunização total da população após um período moderado de tempo (4 a 8 anos) ou pode dar continuidade à imunização da população após a aplicação da vacinação massiva. Idealmente os animais jovens vacinados são identificados com uma marca auricular distinta dos adultos vacinados de modo a poder fazer um seguimento dos animais ao longo dos anos (Muñoz, 2008). Do ponto de vista técnico, um programa de vacinação de jovens é a estratégia de erradicação mais frequentemente recomendada já que permite o controlo eficaz da doença e permite que os animais se mantenham imunizados, sendo capazes de resistir a uma infecção causada por uma reintrodução acidental da doença na unidade epidemiológica (Blasco, 2010).

Infelizmente a cobertura vacinal de toda a população de pequenos ruminantes raramente é atingida, especialmente quando se utilizam sistemas tradicionais de produção extensiva, em que os produtores acabam por criar jovens de substituição durante todo o ano, muitas vezes sem uma decisão relativamente à sua incorporação no rebanho como animais reprodutores, dependendo das condições favoráveis para pastar e do preço de mercado dos borregos e cabritos. São, por isso, necessárias várias visitas veterinárias por ano para que se consiga a cobertura vacinal total dos animais que permanecem no rebanho. Estas circunstâncias determinam em grande parte o insucesso desta estratégia de controlo, resultando na manutenção da doença nos rebanhos (Blasco, 2010). Segundo Banai (2002), o insucesso também pode dever-se ao facto da vacinação de animais jovens permitir a redução da taxa de abortos mas ser pouco eficaz na prevenção da infecção.

O programa combinado de vacinação de jovens com o teste e abate de animais adultos pode ser aplicado quando a prevalência de brucelose é moderada. Um dos erros mais frequentemente cometidos nos últimos estágios do programa combinado de erradicação é a interrupção prematura da vacinação (Minas, Minas, Stournara & Tselepidis, 2004). Como

regra geral, a vacinação só deve ser suspensa quando a prevalência colectiva é próxima de zero (durante pelo menos uma geração) e o risco de transmissão ou reintrodução da doença a partir de unidades epidemiológicas vizinhas infectadas é negligenciável (Blasco, 2010).

### **2.6.2.3 Controlo e erradicação da brucelose**

Existem 3 métodos gerais para o controlo e erradicação da brucelose em animais: implementação de medidas de higiene, vacinação (já descritas anteriormente) e teste e abate dos animais seropositivos. Estas três medidas são mais eficazes quando combinadas (Nicoletti, 2010).

O teste e abate dos animais seropositivos baseia-se na identificação de animais positivos nos testes serológicos e o seu abate o mais prontamente possível e, normalmente, faz parte de programas governamentais organizados cujo objectivo é a erradicação da doença numa área ou país (Nicoletti, 2010). Na maioria dos casos, o teste e abate de animais seropositivos só é bem sucedido se a prevalência do rebanho/população é muito baixo (1%) (Corbel, 2006). Num estudo, Taleski et al. (2002) observaram que a implementação desta estratégia isoladamente numa região onde a brucelose é endémica não resultou na melhoria da situação durante muitos anos. Esta estratégia só eficaz se a prevalência for menor que 2%, caso contrário tem de ser complementada com vacinação dos animais (El Sherbini et al., 2005).

Para que um programa baseado apenas em teste e abate de animais seropositivos seja eficaz na redução da prevalência da brucelose nos pequenos ruminantes é imprescindível garantir um número mínimo de animais testados e uma frequência mínima de testagem dos animais. Uma simulação estocástica realizada por Hegazy, Ridler & Guitian (2009) mostrou que quando 80% dos animais são testados todos os anos e os animais positivos são abatidos, a prevalência desce para menos de 1% em 4 anos. A diminuição da frequência de testagem dos animais, mesmo quando realizada à totalidade dos animais, resulta num decréscimo menor e mais lento da prevalência.

São poucos os países que conseguem suportar os custos elevados de um programa de “teste e abate”, pois o abate imediato dos animais seropositivos é oneroso e requer a cooperação dos proprietários dos animais (normalmente é necessário que haja indemnização financeira) (Corbel, 2006).

O nomadismo, a mistura de rebanhos e a existência de reservatórios noutras espécies que se verificam em algumas regiões, condicionam negativamente o sucesso desta medida de controlo da doença (Nicoletti, 2010).

O abate total de um rebanho detectado como infectado é muitas vezes mais prático que o abate parcial dos animais identificados como infectados e por vezes é mesmo necessário. Deve ser acompanhado de medidas complementares como limpeza e desinfecção das instalações, atraso na reutilização de áreas de pasto comuns e repovoamento atempado (SANCO, 2009).

As dificuldades técnicas desta estratégia prendem-se com o facto de a especificidade dos teste serológicos diminuir significativamente quando a prevalência da doença é baixa, conduzindo ao abate desnecessário de animais saudáveis, devido à ocorrência de reacções serológicas falso-positivas por *Yersinia enterocolitica* O:9 ou outras bactérias que induzam a formação de anticorpos com reacções cruzadas contra o S-LPS de *Brucella* (MacMillan, 1990 citado por Blasco, 2010).

O objectivo de um programa de controlo em animais é reduzir a prevalência de casos humanos e limitar as consequências económicas causadas pela doença nos animais, e não a eliminação da doença (Blasco, 2010). Assim, está implícito que um certo “nível aceitável” de infecção permaneça na população. Os programas de controlo têm uma duração indefinida e têm de ser mantidos mesmo quando se atinge o “nível aceitável” de infecção, de modo a que não ocorra a re-emergência da doença. Os programas de controlo permitem a redução da exposição a *Brucella* spp. e o aumento da resistência dos animais à infecção (Corbel, 2006).

Os programas de controlo, baseados na vacinação, permitem a manutenção de prevalência de brucelose num nível baixo e a obtenção do estatuto “Indemne” de brucelose no país ou região.

A erradicação consiste na eliminação total do agente patogénico de um país ou região e deve ser o objectivo final de qualquer estratégia sanitária, independentemente da extensão da unidade epidemiológica (Corbel, 2006).

A adopção de um programa de erradicação constituído exclusivamente pelo teste e abate de animais seropositivos apenas pode ser considerada quando se verifica a manutenção de uma situação de prevalência colectiva de brucelose na unidade epidemiológica extremamente baixa (perto de 0%), ocorre uma melhoria paralela dos serviços veterinários e dos recursos económicos, existe uma necessidade geral de acesso aos mercados internacionais, não há ocorrência de novos casos durante pelo menos o período de uma geração e o risco de transmissão e reintrodução da doença a partir de vizinhança infectada é negligenciável (Blasco, 2010). Quando esta situação favorável se verifica, o programa de vacinação pode ser suspenso já que os inconvenientes da vacinação superam qualquer benefício que esta possa trazer em termos de custo-benefício e custo-eficácia (Corbel, 2006).

Um programa de erradicação envolve a mobilização de uma quantidade avultada de recursos (financeiros e humanos) que podem não estar disponíveis ou cujo retorno de investimento pode exigir um intervalo de tempo maior do que qualquer autoridade decisora possa comportar. Deste modo, a sua aplicação em países em vias de desenvolvimento é muitas vezes impraticável. Em situações que se caracterizem por elevada prevalência e utilização de sistemas de produção extensivos, a sua implementação resulta muitas vezes em insucesso (Corbel, 2006; Blasco, 2010).

O sucesso da erradicação e a conservação do estatuto livre de brucelose pressupõem o cumprimento de certos princípios como implementação de um sistema de vigilância eficaz com apoio laboratorial adequado, a implementação de medidas de prevenção que evitem a entrada de animais infectados em rebanhos saudáveis, o controlo exaustivo do movimento animal, a identificação individual de todos os animais e a compreensão e cooperação por parte de todas entidades envolvidas no programa sanitário. Um dos maiores desafios para o programa de erradicação é a ocorrência de infecções por *B. melitensis* em bovinos, quando estes têm contacto com pequenos ruminantes infectados. A doença não parece ser sustentável na ausência de pequenos ruminantes, mas causa aborto nos bovinos e consequente contaminação ambiental (Godfroid et al., 2005).

Na União Europeia, o programa de erradicação permite a obtenção do estatuto “Oficialmente Indemne” de brucelose após a qual deve ser implementado um sistema de vigilância para a detecção precoce de eventuais novos casos ou da reintrodução da doença (Blasco, 2010).

O tratamento antibiótico de animais infectados, ou expostos ao agente, não é recomendado como medida para o controlo da brucelose devido aos resultados incertos da terapia (Corbel, 2006), chegando mesmo a ser proibido em alguns países, incluindo Portugal (Decreto-Lei n.º 244/2000, de 27 de Setembro).

#### **2.6.2.4 Escolha do programa sanitário a implementar**

A decisão da estratégia sanitária a implementar deve ter em conta factores relacionados com o sistema de produção e a epidemiologia da doença.

Primeiro é essencial determinar da situação real da brucelose nos animais, através da identificação das espécies animais afectadas, da definição da unidade epidemiológica mínima para intervenção sanitária e da determinação da prevalência colectiva (percentagem de rebanhos infectados que existem numa região dentro do mesmo país ou unidade epidemiológica).

A opção por uma estratégia sanitária depende principalmente da prevalência colectiva da unidade epidemiológica. Assim, segundo Blasco (2010):

- Se a prevalência colectiva é elevada (mais de 10% de rebanhos infectados na unidade epidemiológica), a estratégia mais indicada é a vacinação massiva de todos os animais de todas as espécies envolvidas no ciclo epidemiológico da doença.
- Em casos em que a prevalência colectiva é moderada (entre 1 e 10%), deverá ser aplicado um programa combinado de vacinação dos animais jovens (3 a 4 meses de idade) e de teste e abate dos animais adultos seropositivos.
- Quando a prevalência colectiva da unidade epidemiológica é muito baixa (menos de 1% dos rebanhos estão infectados), a estratégia poderá consistir exclusivamente no

teste e abate dos animais seropositivos; a vacinação deverá ser interdita se se pretende atingir o estatuto Oficialmente Indemne de Brucelose.

A unidade epidemiológica mínima deverá ser constituída por uma extensão territorial com situação epidemiológica semelhante; pode, portanto, consistir tanto em dois rebanhos isolados numa aldeia como em todos os rebanhos de uma freguesia, região ou mesmo país. Por outro lado, muitas vezes verifica-se a existência de diferentes situações epidemiológicas dentro da mesma região e os decisores sanitários devem estar preparados para aplicar diferentes estratégias. É preciso também ter em conta que a brucelose não tem fronteiras administrativas e a unidade epidemiológica mínima é transfronteiriça (especialmente em sistemas de produção extensivos e com prática de transumância). As estratégias de controlo ou erradicação devem ter em conta a prevalência e situação epidemiológica da doença no país vizinho (Blasco, 2010).

Idealmente, os membros da comunidade devem ter uma participação activa no planeamento dos programas já que conhecem as estruturas sociais, situações, recursos e necessidades locais (Corbel, 2006).

## **2.7 Vigilância**

Quando a brucelose foi totalmente erradicada de uma determinada unidade epidemiológica (obtendo-se portanto o estatuto Oficialmente Indemne de brucelose) é impreterível a implementação de um sistema de vigilância. O principal objectivo de um sistema de vigilância é detectar eventuais surtos ou reintrodução de uma doença, permitindo não só a aplicação de medidas com acção imediata ou a longo-prazo mas também a optimização dos recursos disponíveis, a determinação de prioridades, o planeamento de acções alternativas e a determinação dos seus custos e benefícios. A vigilância é um pré-requisito para qualquer programa de controlo ou erradicação de uma doença (Corbel, 2006; Blasco, 2010). A eficácia do sistema de vigilância depende em grande parte da confiança e cooperação dos produtores, da disponibilidade e capacidade dos serviços de diagnóstico, da cooperação dos serviços veterinários com as autoridades de saúde pública e da identificação animal (Corbel, 2006). Um aspecto importante dos sistemas de vigilância é o treino e a motivação dos médicos veterinários responsáveis pela colheita de amostras. Idealmente o médico ou médicos veterinários responsáveis devem ter formação avançada em epidemiologia e bioestatística e estar familiarizados com programas informáticos (Robinson, 2003).

A recolha de informação num programa de vigilância pode ser passiva ou activa. A recolha passiva de informação assenta em dados fornecidos em consequência de actividades correntes, ou seja, dados dos serviços de saúde, dos serviços veterinários e laboratórios. Essas actividades incluem, por exemplo a notificação de abortos (obrigatória em alguns países), a notificação de casos de brucelose por parte dos médicos veterinários e a identificação de casos humanos pelos médicos. Estes últimos são muitas vezes um útil

indicador da presença da doença nos animais e em algumas áreas ou países podem mesmo ser a única fonte de informação num sistema de vigilância (Samartino, 1997; Robinson, 2003; Corbel, 2006). Segundo Blasco (2010), os sistemas de vigilância passivos mostraram ser ineficazes na detecção precoce e atempada de surtos de brucelose, pelo que recomenda a implementação de um sistema de vigilância activo.

A recolha activa de informação consiste na procura e recolha activa de dados nos animais e assenta em resultados laboratoriais, investigação de surtos/casos e testes realizados em matadouros ou mercados, sendo a unidade de observação o rebanho, aldeia ou região, e não o animal individual, já que a brucelose constitui um problema epidemiológico (Robinson, 2003).

A recolha activa de dados sobre brucelose animal inclui:

- Rastreios serológicos regulares (utilizado RBT ou i-ELISA) de uma amostra representativa da população (Blasco, 2010). O CFT é recomendado como teste de confirmação e é o teste exigido para as trocas comunitárias, embora a imunodifusão e o c-ELISA possam ser úteis (Robinson, 2003). O rastreio pode ser realizado a todo o rebanho ou a uma amostra representativa aleatória ou não aleatória (grupos de alto risco, como rebanhos adjacentes a rebanhos infectados ou que partilham pastos com os mesmos) de populações animais. Estas amostras são constituídas por animais sexualmente maduros não vacinados com mais de 6 meses ou vacinados com mais de 12 meses (Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de Setembro).
- Inquéritos epidemiológicos – permitem identificar a origem dos animais que foram adicionados a rebanhos infectados ou que foram vendidos a partir de rebanho infectados, e localizar fontes de casos humanos de brucelose.
- Testes em animais, nos matadouros ou mercados – este método permite a localização da origem dos animais positivos com confiança razoável. A eficácia diminui com a diminuição da incidência na população
- Pesquisa, através de análises laboratoriais, de causas de aborto, partos prematuros ou outros sinais clínicos, com isolamento dos animais suspeitos até se obter um diagnóstico.

Estes dados podem ser utilizados para determinar a prevalência dos rebanhos infectados numa área, a prevalência da doença num rebanho e determinar a incidência. A incidência é importante na avaliação dos esforços feitos no sentido do controlo e da erradicação (Corbel, 2006).

A estratégia de testagem sistemática dos animais deve ser adaptada à prevalência da doença. Se a prevalência é elevada, recomenda-se a utilização de testes de sensibilidade adequada e de alta especificidade, para a detecção da maioria dos animais/rebanhos realmente infectados, minimizando o número de reacções falso-positivas. Quando a prevalência diminui, devem ser utilizados testes de especificidade adequada mas com alta

sensibilidade; nesta situação, e especialmente em países indemnes de brucelose, existe uma grande dificuldade na interpretação dos resultados pois a existência de um animal positivo pode constituir o primeiro sinal de introdução da doença no rebanho ou resultar de uma reacção falso-positiva sem importância (Robinson, 2003).

Nos países da União Europeia indemnes de brucelose, o rastreio é realizado a uma amostra da população animal, consistindo no teste de 25% das fêmeas adultas num intervalo de três anos (Directiva 91/68/EEC; Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de Setembro). Segundo Blasco (2010), a utilização de regras generalistas e empíricas na amostragem deve ser evitada e recomendando-se o teste regular (pelo menos uma vez por ano) de uma amostra representativa da população cuja composição deve ser calculada tendo em consideração o número de rebanhos, o número médio de animais por rebanho, o nível de prevalência esperado e o grau de confiança dos cálculos feitos.

A análise dos dados recolhidos pelo sistema de vigilância permite identificar e quantificar a necessidade em actividades para a saúde e avaliar a sua execução. No final, os sistemas de vigilância geram relatórios técnicos sobre as condições de saúde, os recursos disponíveis, o seu uso e os resultados obtidos. Muitas vezes o fracasso de esforços de controlo e erradicação devem-se à ausência de um sistema de vigilância epidemiológica adequado que sustente as decisões técnicas e políticas (Corbel, 2006).

### **3 Zoonose**

A brucelose é uma importante zoonose, sendo *B. melitensis* o tipo de *Brucella* mais frequentemente reportado como causa da doença em humanos e é de facto o agente mais frequentemente isolado e a espécie mais virulenta.

Apesar de existir um tratamento eficaz para humanos, a prevenção desta doença é a abordagem ideal. A prevenção assenta não só na implementação de medidas de higiene a nível individual e colectivo (saúde pública) mas principalmente no controlo da infecção nos animais. Com efeito, Nicoletti (2010) defende que a redução da incidência em humanos apenas tem sucesso quando os esforços veterinários de controlo da doença nos animais são bem sucedidos.

No Médio Oriente, a infecção de bovinos por *B. melitensis* constitui um importante problema já que apenas um animal infectado pode contaminar grandes volumes de leite infectado e um aborto ou parto infectado determinam uma extensa contaminação ambiental.

#### **3.1 Transmissão ao Homem**

A susceptibilidade dos humanos depende de vários factores incluindo estatuto imunitário, fonte de infecção, tamanho do inóculo e espécie de *Brucella*.

As vias de infecção mais comuns incluem ingestão de leite ou outros laticínios não pasteurizados. Outra fonte de infecção importante é através de exposição ocupacional a animais infectados: inoculação directa em cortes e abrasões na pele, inoculação via mucosa conjuntival dos olhos e inalação de aerossóis infecciosos. Nos países industrializados onde a pasteurização é uma prática comum, a exposição ocupacional é considerada a principal fonte de infecção. Estudos realizados por de Massis, di Girolamo, Petrini, Pizzigallo & Giovannini (2005), e Obradović & Velić (2010) demonstram a existência de picos sazonais de casos humanos relacionados com a produção e consumo de queijos frescos. A transmissão entre pessoas é possível mas rara, e dá-se por transfusão de sangue, transplante de tecidos e contacto sexual (Corbel, 2006; Mantur, Mangalgi & Mulimani, 1996). Um *cluster* de casos humanos pode resultar de um surto com fonte comum ou de um *cluster* de factores de risco espacio-temporais (Fosgate et al., 2002).

Outras situações que podem representar risco para o Homem mas são muitas vezes negligenciadas, são o meio ambiente contaminado (ex.: locais contaminados por fezes e produtos dos partos/abortos) e as viagens a países endémicos, com consumo de alimentos “étnicos” infectados e a sua importação para os seus próprios países, pondo em risco as suas famílias e contactos sociais (Corbel, 2006).

### **3.1.1.1 Transmissão por via alimentar**

Esta é a principal fonte de de infecção brucélica, ocorrendo pequenas epidemias com fonte comum, resultantes da ingestão de leite não sujeito a tratamento térmico ou seus produtos derivados preparados (Robinson, 2003). O leite de vaca, ovelha ou cabra contaminado com *B. melitensis* é especialmente perigoso, já que pode conter um grande número de organismos de *Brucella* e é consumido em grandes volumes, nalgumas áreas de forma tradicionalmente sem tratamento térmico. A manteiga, natas e gelados preparados com leite contaminado também constituem um risco elevado e os organismos de *Brucella* spp. podem persistir durante semanas nestes produtos. Os queijos não curados são uma fonte de infecção muito comum nos países Mediterrânicos e do Médio Oriente, onde, por exemplo, o queijo de cabra fresco elaborado tradicionalmente é muito apreciado pelos consumidores. O processo de fabrico destes queijos pode até concentrar os organismos de *Brucella*, que podem sobreviver até vários meses nestes produtos (Corbel, 2006; Crespo León, 1994). Os queijos de pasta dura preparados por fermentação láctica ou propiónica representam um risco quase nulo, tal como o iogurte e o leite fermentado, já que os organismos de *Brucella* não sobrevivem quando a acidez do meio desce abaixo de pH 4. O equipamento utilizado no transporte ou processamento de leite ou laticínios contaminados pode contaminar outros produtos quando não se verificam boas práticas de higiene (Corbel, 2006; Crespo León, 1994).

A carne e produtos cárneos estão menos frequentemente associados à transmissão da infecção porque geralmente não são consumidos crus mas podem também ser uma fonte de

infecção se forem consumidos insuficientemente cozinhados (Corbel, 2006). O músculo contém normalmente baixas concentrações de *Brucella* e o processo de acidificação por “rigor mortis” no matadouro antes da venda das carcaças e o seu tratamento culinário antes do consumo diminuem grandemente o risco transmissão da doença ao Homem pela via digestiva (Crespo León, 1994). No entanto, o fígado, baço, úbere e testículos contém concentrações muito mais elevadas e em alguns países são preparados pratos tradicionais com estes órgãos, que podem ser consumidos crus ou mal cozinhados. O sangue fresco, simples ou misturado em leite fresco, também pode ser bebido e representa um perigo óbvio (Corbel, 2006). Alguns hábitos alimentares particulares, como o consumo de fetos abortados no Equador, podem ser responsáveis por casos de brucelose humana (Almuneef et al., 2004).

Outras situações de risco são o consumo de vegetais crus contaminados por fezes de animais infectados e situações patológicas ou medicamentosas de acloridria e imunossupressão dos consumidores (Corbel, 2006).

### **3.1.1.2 Exposição ocupacional**

Segundo a WHO/FAO (1982) os grupos sociais de risco de exposição à brucelose são os sectores I (agrícola), II (fabrico de produtos animais), III (silvicultura e campestre), V (clínico/laboratorial) e VI (epidemiológico). Nestes casos, as principais vias de transmissão são a percutânea, respiratória e conjuntival (Corbel, 2006).

Os produtores, tratadores, criadores, pastores, tosquiadores, cabreiros, guardadores de porcos, veterinários e inseminadores estão em perigo através de contacto directo com animais infectados, durante a manipulação não higiénica de fetos e anexos fetais, contacto com estrume fresco ou seco de animais infectados ou através da exposição a um meio ambiente profundamente contaminado. A infecção pode ocorrer por inalação, contaminação conjuntival, ingestão acidental, contaminação da pele, especialmente através de cortes ou abrasões, e auto-inoculação acidental de vacinas vivas (Corbel, 2006; Wallach, Samartino, Efron & Baldi, 1997). O corte do cordão umbilical de recém-nascidos com os dentes é outro hábito de risco, bem como a esfolagem de nados-mortos e fetos abortados, que podem estar altamente contaminados com *Brucella* spp. (Awad, 1998). As famílias dos produtores e criadores de animais também podem estar em risco já que a exposição doméstica pode ser inseparável da exposição ocupacional quando os animais são mantidos na proximidade das residências. Nalguns casos os animais são até trazidos para o interior quando as condições climáticas são duras (Corbel, 2006).

As pessoas que trabalham no processamento de produtos de origem animal podem estar expostas a um risco elevado de infecção: magarefes, talhantes, embaladores de carne, processadores de peles, couros e lã, tratadores de efluentes líquidos de matadouros e funcionários de fábricas de lacticínios. Estas pessoas, caso manipulem animais infectados, estão expostas ao agente infeccioso através da inalação de aerossóis, contaminação de

mucosas, contacto ou penetração na pele, contaminação de feridas e ingestão acidental (Corbel, 2006). Os caçadores acabam por estar expostos de uma maneira semelhante, embora as infecções por *B. abortus* e *B. suis* sejam muito mais relevantes que *B. melitensis* neste grupo de risco.

O pessoal empregado na manutenção das explorações ou fábricas de processamento de produtos de origem animal são muitas vezes negligenciados como grupo ocupacional de risco, mas podem estar expostos a contaminação ambiental nos perímetros dessas instalações.

As infecções laboratoriais são reportadas ocasionalmente e, segundo Martin-Mazuelos et al. (1994), a fonte de infecção mais frequente é a inalação de aerossóis produzidos acidentalmente pelas técnicas microbiológicas. Um estudo realizado por Baron & Miller (2008) identificou *Brucella* como o microrganismo que representa maior risco de infecção em laboratório e identificou a inspiração de placas como o principal comportamento de risco, embora actividades que produzem aerossóis (como a execução de sementeiras, subculturas, teste de catalase, ou diluições para testes de sensibilidade) constituam na verdade um risco maior para os microbiologistas do que o referido. A manipulação de *Brucella* spp. deve ser sempre realizada em câmaras de segurança biológica (laboratório com nível 3 de biossegurança – NB3) já que estes organismos pertencem ao Grupo de Risco 3 da OMS. Embora se recorra ao uso correcto destas câmaras, muitas das exposições ocorrem durante o exame inicial da cultura em bancada aberta, antes da natureza do risco ter sido determinada. A utilização de sistemas de teste em galerias de identificação rápida tem causado a identificação errada de estirpes de *Brucella* como *Moxarella* spp., com graves consequências para os trabalhadores (Corbel, 2006; OIE, 2009). A preparação e utilização de vacinas vivas para uso animal também é perigosa já que a estirpe *B. melitensis* Rev 1 utilizada na vacinação de pequenos ruminantes apesar de atenuada, ainda tem virulência residual para o Homem, tal como as estirpes *B. abortus* S19 e RB51 em bovinos (Corbel, 2006; Banai, 2002), tendo sido demonstrado que causam doença em humanos se acidentalmente inoculadas (Nicoletti, 2010). A estirpe vacinal *B. melitensis* Rev 1 é por vezes excretada no leite de animais recentemente vacinados mas segundo Godfroid et al. (2005) não se reconhecem riscos para a saúde pública derivados da ingestão deste leite.

### **3.1.1.3 Factores sazonais**

Em países com clima temperado ou frio existe uma sazonalidade marcada na incidência de brucelose humana, em que a maioria dos casos ocorre nos meses de Primavera e no Outono. Isto coincide com o pico do período de partos/abortos e cuidados pós-parto nos pequenos ruminantes e, conseqüentemente, ao período de maior exposição das pessoas que lidam com estes animais e que consomem o seu leite (Robinson, 2003). Nas áreas

tropicais e subtropicais, onde o período de partos se estende durante todo o ano, não parece haver uma influência sazonal na incidência de brucelose (Corbel, 2006).

### 3.1.2 Prevenção da brucelose no Homem

Para muitos especialistas a vacina para humanos é uma prioridade, mas Nicoletti (2010) defende que essa vacina não terá impacto e que os esforços devem ser dirigidos ao controlo de doença nos animais, pois este é de longe o meio mais eficaz na redução da incidência de casos humanos. Com efeito, nos países onde a infecção por brucelose foi controlada e eventualmente erradicada nos animais domésticos, verificou-se uma redução significativa dos casos humanos (Robinson, 2003). Um estudo realizado por Minas et al. (2004) mostrou que à medida que a proporção de animais vacinados aumenta na população, há uma diminuição significativa da incidência de brucelose em humanos em cada ano observado desde o segundo ano da campanha de vacinação.

Para minimizar o impacto da doença e reduzir o risco de infecção, devem também ser feitos esforços no sentido da educação para a saúde (Obradović & Velić, 2010) promovendo a melhoria da higiene pessoal, a adopção de práticas seguras no trabalho, a protecção do ambiente e da higiene e segurança sanitária dos alimentos.

Algumas medidas de prevenção incluem (Corbel, 2006):

- Utilização de roupa protectora (avental, luvas, botas, viseira) quando se lida com animais infectados;
- Manutenção dos trabalhadores, incluindo técnicos de laboratório, sob vigilância médica (exames serológicos periódicos);
- Abate de animais infectados em matadouros especialmente designados para esse efeito ou em matadouros comuns no final do dia, após o abate dos animais saudáveis;
- Educação contínua sobre práticas de trabalho seguras e higiénicas, enfatizando os riscos associados à infecção por *Brucella*;
- Fervura ou pasteurização a altas temperaturas de todo o leite para consumo humano, quer seja directamente bebido quer seja posteriormente processado ou utilizado na produção de outros produtos alimentares;
- Desencorajamento do consumo de leite cru, sangue ou carne não cozinhada.

As medidas anteriormente descritas devem estar integradas em programas de controlo da doença e a colaboração dos serviços de saúde e veterinários é fundamental.

Os objectivos principais de um sistema de vigilância em humanos são a identificação de novos casos de infecção humana e a determinação da origem da infecção (Robinson, 2003). Secundariamente, podem constituir uma evidência inicial da existência de infecções não reconhecidas em animais (Nicoletti, 2010).

A monitorização do número de casos notificados pelos médicos pode dar uma indicação da presença da doença na população, mas não fornece uma indicação quantitativa precisa da

incidência da brucelose já que geralmente esta doença é sub-notificada (Corbel, 2006). A OMS e a FAO recomendam a notificação obrigatória e imediata dos casos humanos pelos médicos e a sua investigação conjunta com as autoridades veterinárias. A notificação de resultados positivos no laboratório, independentemente da notificação por parte do médico, pode aumentar a sensibilidade do sistema de vigilância (Robinson, 2003).

### **3.2 Colaboração Intersectorial**

Em regiões onde a brucelose humana é endémica, é de importância capital o reconhecimento de que a saúde humana e animal estão intrínsecamente ligadas e que os sectores veterinário e da saúde pública partilham o mesmo objectivo: a protecção, promoção e melhoramento da saúde e bem estar das populações humanas (Nicoletti, 2010). A colaboração é apenas o primeiro passo no estabelecimento de um programa de controlo eficaz. O sucesso dos programas ultrapassa os deveres dos médicos e dos médicos veterinários (Pappas et al., 2006) – todas as secções da comunidade precisam de estar envolvidas no processo e prestar o seu apoio. Isto estende-se desde cidadãos individuais, que precisam de estar cientes das medidas necessárias para a protecção e melhoria da sua própria saúde, aos líderes políticos nacionais, que precisam de encontrar e consignar os recursos necessários para implementar o programa (Corbel, 2006). Os surtos de brucelose em países indemnes da doença podem ser contidos e caracterizados rápida e eficazmente se houver uma estreita cooperação entre médicos e veterinários (Punda-Polić & Cvetnić, 2006).

### **3.3 Educação para a Saúde**

A implementação de leis, regulamentos e polícia veterinária não atingirão por si só os resultados esperados de um programa de controlo e/ou erradicação (Corbel, 2006); é necessária a sua compreensão por parte de todas as pessoas que trabalhem directa ou indirectamente nesses programas, incluindo indivíduos envolvidos na produção de animais, na manipulação de alimentos e nas campanhas sanitárias, e também por parte do público em geral. É fundamental que o público em geral, e especialmente as comunidades de áreas endémicas, tenham consciência do perigo para a saúde e da importância económica das zoonoses e doenças veiculadas pelos alimentos. Quanto maior for a consciencialização social, mais os indivíduos e famílias aceitam a responsabilidade da protecção dos seus animais e de si próprios. Assim, os programas de educação para a saúde devem ser direccionados para medidas específicas e enfatizar a responsabilidade dos indivíduos na salvaguarda e melhoria da sua própria saúde e da comunidade (Corbel, 2006).

A Educação para a Saúde pode estar incluída nas actividades dos programas de controlo da brucelose, ou constituir uma actividade independente. É uma tarefa difícil e complexa, que

tem de ter em conta considerações específicas relativas à comunidade em questão, incluindo cultura, crenças, tradições, nível educacional, estatuto social, ocupação, idade, etc. (Corbel, 2006).

A educação para a saúde pode ser realizada a vários níveis. As escolas representam a situação de aprendizagem mais importante para uma parte significativa da população e a instrução eficiente das crianças tem influência não só nas suas próprias vidas mas também na próxima geração. A educação no local de trabalho também tem uma importância fulcral, nomeadamente a instrução de trabalhadores da indústria alimentar e de donos/coordenadores de estabelecimentos de preparação de comida sobre os perigos das doenças transmitidas pelos alimentos (Corbel, 2006).

As comunidades de emigrantes em países industrializados muitas vezes mantêm crenças e costumes que constituem risco para a saúde, como o consumo de leite cru. Devem ser promovidos encontros de carácter educacional entre estas comunidades e as autoridades de saúde (Ramos et al., 2008), promovendo hábitos alimentares e práticas seguros mas sem desrespeito pela sua cultura e tradição.

#### **4 Brucelose dos pequenos ruminantes em Portugal e em Trás-os-Montes**

A Brucelose é a zoonose com maior impacto em Portugal, sendo uma doença de declaração obrigatória desde 1953 e sujeita a campanhas de controlo nos pequenos ruminantes desde esse ano. A doença é responsável por importantes prejuízos económicos, tanto a nível das explorações pecuárias individuais como a nível do país (Fonseca, 2011), e tem um impacto importante na saúde pública. Portugal foi o segundo país da União Europeia com o maior número casos humanos de brucelose por 100 000 habitantes em 2009, apenas superado pela Grécia (EFSA & ECDC, 2009).

Portugal é considerado um país não indomado de Brucelose por *B. melitensis*, excepto a Região Autónoma dos Açores que adquiriu este estatuto em 2003 (Decisão da Comissão de 17 de Janeiro de 2003 - 2003/44/EC). Também na Beira Interior, a erradicação em alguns concelhos foi atingida através da implementação de uma estratégia de abate total de efectivos infectados (e vazio sanitário) nos quais a implementação de medidas de profilaxia e policia sanitária não estavam conseguir um o controlo eficaz da doença; esta estratégia foi seguida da vacinação contínua dos animais jovens com Rev 1 por via conjuntival, resultando na diminuição das prevalências de brucelose em efectivos e em animais para 0% (Lemos, 2011). A aplicação de programas sólidos e eficazes permitiu atingir a erradicação em algumas zonas do país, pelo que a perspectiva em relação às áreas problemáticas é positiva.

O programa de erradicação da brucelose dos pequenos ruminantes (PEB) já tem uma longa duração (vinte anos) e é aplicado a uma doença antiga, pelo que a realização de actividades rotineiras (como o rastreio e reinspecção, realização de inquéritos epidemiológicos) e a falta de motivação por parte dos intervenientes constituem um entrave importante à sua erradicação (Fonseca, 2011).

Segundo a Direcção Geral de Veterinária [DGV] (2010b), o insucesso na erradicação da brucelose deve-se a vários motivos, entre os quais:

- Perfil inconstante da doença nos animais (o quadro sintomatológico é praticamente inexistente, podendo a doença ser combatida apenas através do controlo serológico activo e sistemático e da utilização correcta da vacina Rev 1);
- Lacunas na educação e pouca sensibilidade dos produtores relativamente aos prejuízos económicos e sociais da Brucelose e, conseqüentemente, uma baixa participação no programa;
- Intenso movimento dos animais.

Fonseca (2011) aponta ainda a falta de aplicação de medidas de biossegurança por parte dos produtores como causa para a persistência da doença em algumas regiões do país. Os produtores não associam manutenção do estatuto oficialmente indemne a vantagens económicas para a sua exploração.

Apesar destas dificuldades, a prevalência de explorações positivas e de animais positivos no país tem diminuído sistematicamente na última década. O sucesso da implementação do PEB dos pequenos ruminantes é confirmado pela diminuição verificada nos casos confirmados de brucelose humana nos últimos anos (Fonseca, 2011; EFSA & ECDC, 2009). Neste momento o sucesso do PEB dos pequenos ruminantes será determinado por esforços na melhoria da identificação dos efectivos infectados (especialmente através da aplicação de identificação electrónica), a execução de intervenções sanitárias atempadas em todos os efectivos a nível nacional, o saneamento dos efectivos não aderentes às OPP, a realização de abates totais e o reforço da atenção por parte dos serviços e das OPP aos rebanhos problema (Fonseca, 2011). A erradicação desta doença com graves conseqüências para a saúde animal e humana determinará vantagens não só económicas (aumento da produtividade dos animais, livre circulação dos animais em trocas intercomunitárias, dedução dos custos inerentes ao programa de erradicação) mas também uma melhoria do nível de vida dos produtores nacionais e preservação da saúde pública (DGV, 2010b).

As regiões de Trás-os-Montes e Algarve constituem as zonas onde a erradicação da doença apresenta maiores desafios (DGV, 2010b). Estas regiões estão sujeitas a programas especiais de erradicação, baseados na vacinação com Rev 1 por via conjuntival.

## 4.1 A brucelose dos pequenos ruminantes na região de Trás-os-Montes

A região de Trás-os-Montes engloba 13% do efectivo nacional de pequenos ruminantes e a sua produção constitui uma importante actividade económica local e ajuda na prevenção do êxodo rural (Direcção Geral de Veterinária [DGV], 2010a). Os pequenos ruminantes têm principalmente aptidão de carne mas verifica-se o fabrico artesanal de queijo, principalmente fresco. Estes recursos estão na origem da elaboração de muitos produtos tradicionais muito valorizados, procurados e vendidos e que representam um papel importante no desenvolvimento sustentável e na actividade turística na região. O queijo tradicional é o segundo produto tradicional mais utilizado na confecção de pratos típicos e é directamente adquirido ao produtor na maioria das vezes, muito apreciado e consumido pelo produtor e oferecido ou vendido a terceiros (Monteiro, Mestre & Azevedo, 2005).

As principais raças ovinas e caprinas transmontanas são exploradas em sistemas de produção extensivos e semi-extensivos, sendo comum a utilização de pastoreio comunal com aproveitamento de áreas marginais (DGV, 2010a; Monteiro, Mestre, Fontes, & Azevedo, 2005a, 2005b, 2005c, 2005d, 2005e; Monteiro, Mestre, Pimenta, & Azevedo, 2005). As explorações raramente estão isoladas, sendo comum a prática de vezeira (em que todos os rebanhos de uma aldeia são criados juntos e são pastoreados em terrenos baldios) (Gonçalves, 1993; Coelho, 2007).

Na região de Trás-os-Montes, às dificuldades encontradas na implementação do PEB a nível nacional, ainda crescem as seguintes circunstâncias (DGV, 2010a):

- Dificuldades na aplicação e conseqüente falha na vacinação em áreas de risco;
- Dificuldades na correcta identificação dos animais e no controlo das deslocações dos mesmos;
- Baixo nível de escolaridade dos produtores.

A população rural desta região é constituída, na sua maioria, por pessoas de idade avançada, iletradas e a quem é difícil transmitir a importância do cumprimento do programa de erradicação (Gonçalves, 1993; Coelho, 2007). Ginja (1996), em inquéritos realizados aos produtores associados à OPP de Torre de Moncorvo (distrito de Bragança) apurou a “sabedoria popular” acerca da brucelose dos pequenos ruminantes, constatando que os produtores tinham noções erradas relativamente ao saneamento e à transmissão a humanos. Por exemplo, os produtores consideravam que:

- Os animais positivos não deveriam ser abatidos, mas antes vacinados e tratados;
- As colheitas de sangue deveriam ser realizadas, no máximo, uma vez por ano;
- Os animais só devem ser separados do rebanho após o parto;
- Qualquer animal com brinco poderia ser introduzido num rebanho, uma vez que estaria saneado.

A região de Trás-os-Montes está sujeita a um programa especial de controlo e erradicação da brucelose dos pequenos ruminantes, já que as percentagens de animais positivos e de rebanhos positivos nesta região sempre foram muito superiores aos valores nacionais, embora se tenha registado uma significativa diminuição a partir de 2000. A vacinação na região em Trás-os-Montes diminuiu significativamente a partir de 1992, tendo sido praticamente abandonada em 1995. Consequentemente a esta decisão verificou-se um aumento da percentagem de animais positivos a partir de 1998. As intervenções consistindo em vacinação dos animais jovens foram retomadas pelas OPP nesse ano (Neto & Vaz, 2002). Entre 1991 e 2001 foi implementado um programa de erradicação baseado na identificação e abate dos animais positivos. A situação sanitária em 2000 (elevada prevalência de animais infectados e de rebanhos infectados – 8,9% e 43% respectivamente) e as características dos sistemas de produção utilizados nesta região levaram à reavaliação do programa e a adopção de uma estratégia de controlo baseada na vacinação massiva com Rev 1 de animais adultos e jovens por via conjuntival (excepto fêmeas entre 30 a 120 dias de gestação), combinada a uma política de teste e abate dos rebanhos indemnes ou isolados (com pastos próprios). Esta estratégia foi aplicada até 2005, ano em que se iniciou a transição para o actual programa de erradicação (Neto & Vaz, 2002; DGV, 2010a).

A vacinação massiva tem a vantagem de permitir um controlo eficaz da brucelose numa população animal com movimento intenso. Além disso, a vacinação com Rev 1 confere boa imunidade e constitui uma estratégia de controlo facilmente aceite pelos produtores, embora a restrição do movimento dos animais 60 dias após a vacinação não seja tão bem tolerada pelos mesmos (Neto & Vaz, 2002).

Coelho (2007) constatou que entre 2001 e 2004 as prevalências de brucelose em rebanhos e a nível individual (dentro do rebanho) foram superiores aos valores nacionais e que maiores prevalências estavam associadas a efectivos de maiores dimensões. Os rebanhos de ovinos apresentaram maior prevalência que os rebanhos de caprinos, mas a maior prevalência registada correspondeu a rebanhos mistos. A prevalência nos efectivos com aptidão de carne foi superior à dos efectivos com aptidão de leite, provavelmente devido à tendência para a criação extensiva dos primeiros.

São poucos os estudos tentam apurar os factores de risco implicados na manutenção desta doença em Trás-os-Montes. Gonçalves (1993) constatou que entre 1985 e 1989 os factores epidemiológicos mais frequentemente relacionados com explorações positivas na região de Trás-os-Montes foram a não destruição dos produtos do parto ou aborto, a manutenção de animais positivos nas explorações (por resistência dos produtores aos abates sanitários e atrasos no levantamento dos animais positivos), falta de controlo dos movimentos animais, deficiente identificação animal, a utilização de pastos e abeberamento comunitários e condições sanitárias deficientes. Em 1997, Vaz & Ellis identificaram o sistema de produção extensivo com mistura e contacto próximo entre animais saudáveis e infectados, a

introdução de animais de substituição adquiridos a negociantes, a transumância e a época de partos prolongada como os principais factores implicados na disseminação da brucelose entre animais do mesmo rebanho e entre diferentes rebanhos na região da Serra da Estrela, onde as condições de produção e as condições sócio-económicas se assemelham às condições na região de Trás-os-Montes.

A situação sócio-económica da região melhorou desde então e um estudo mais recente de caso-controlo por Coelho, Coelho, Roboredo & Rodrigues em 2007 demonstrou que os principais factores de risco relacionados com a seropositividade dos efectivos de pequenos ruminantes na região de Trás-os-Montes foram a introdução de animais provenientes de explorações não indemnes ou de estatuto sanitário desconhecido, a utilização de bebedouros sujos ou a sua ausência, a dimensão grande dos rebanhos (> 116 animais) e insuficiente remoção de estrume e limpeza das instalações. Para Fonseca (2010), a existência de rebanhos “abertos” (entrada e saída de animais), a utilização de áreas de pasto comuns, o contacto com rebanhos que representam risco (positivos para a brucelose) e a contaminação das pastagens com materiais dos abortos constituem os principais factores de risco.

## **4.2 Programa especial de erradicação para Trás-os-Montes**

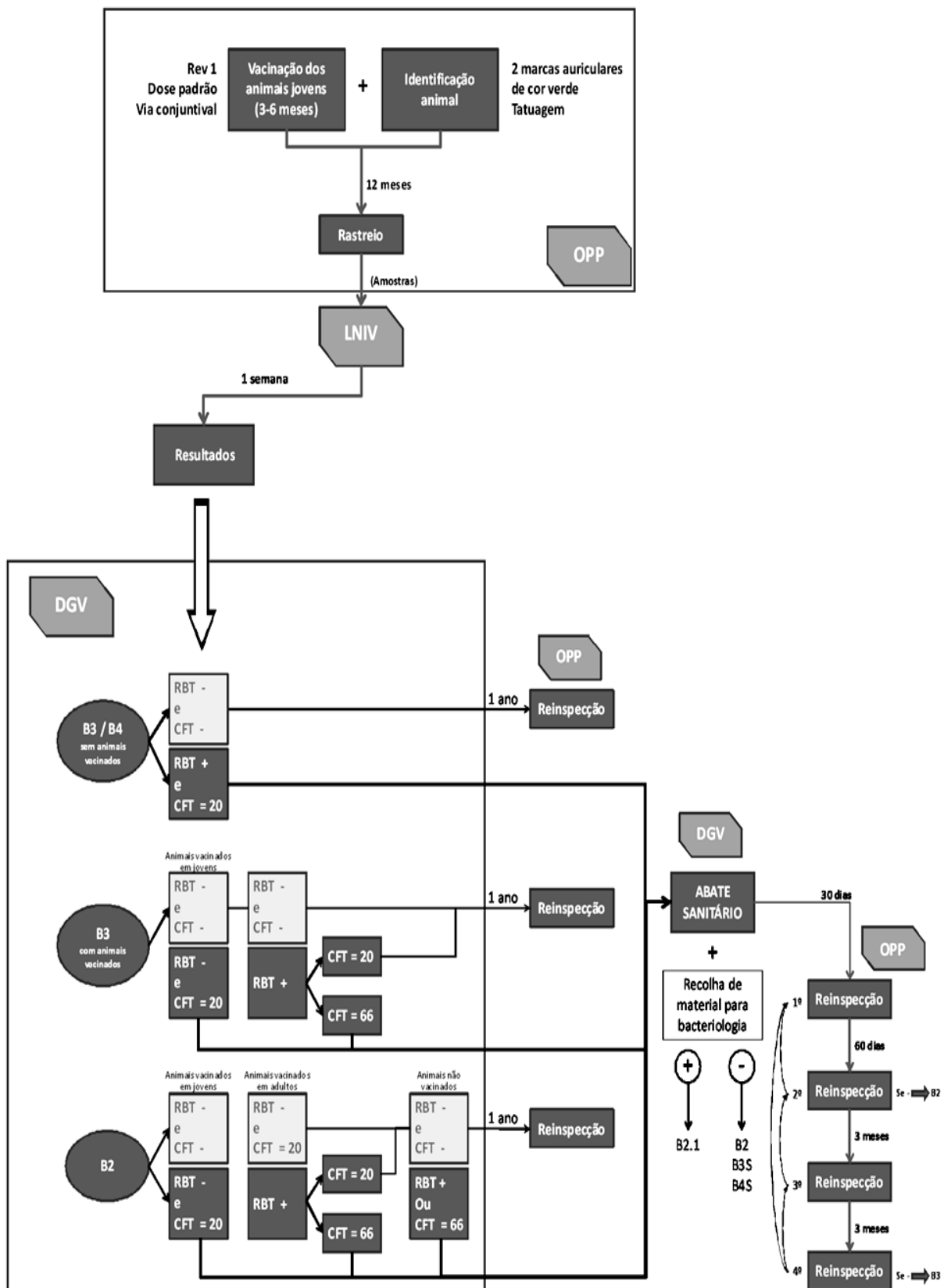
O actual programa de erradicação (Esquema 1), com início em 2005, deverá prolongar-se até 2015 e tem por base a vacinação dos animais jovens entre 3 e 6 meses de idade, existindo um controlo diferenciado dos animais vacinados em jovens e em adultos (rastreo dos jovens 12 meses após a vacinação e dos adultos 24 meses após a vacinação) que determina o critério de abate. Esta medida de controlo é acompanhada pela identificação dos animais vacinados, através da aplicação de marcas auriculares de cor verde em cada uma das orelhas e tatuagem no pavilhão auricular ou virilha esquerdos, e pelo abate dos animais positivos e destruição das suas carcaças e seus produtos. Nas explorações onde a doença está controlada, os esforços são direccionados à sua erradicação através da aplicação das medidas anteriormente descritas, mas excluindo a vacinação dos animais. O programa prevê a execução de esforços contínuos para a melhoria da identificação animal e do controlo do trânsito animal (aliás regulamentados pelo Decreto-Lei n.º 142/2006, de 27 de Julho), bem como do intervalo de tempo que medeia a recolha de amostras para serologia, a emissão de resultados pelo laboratório, o levantamento dos animais positivos para abate sanitário e o pagamento das indemnizações por abate. O programa inclui ainda campanhas de sensibilização dos produtores (especialmente no que respeita à protecção pessoal e dos produtos de origem animal) e a aplicação de penalizações adequadas aos infractores do Decreto-Lei n.º 244/2000, de 27 de Setembro, relativo à execução do Programa de Erradicação da Brucelose (DGV, 2010a). Outras medidas fundamentais do programa de erradicação são (DGV, 2010b):

- Declaração obrigatória da ocorrência de abortos;
- Realização de vazio sanitário durante um mínimo de 6 meses após o abate total do efectivo e repovoamento apenas com animais vacinados ou provenientes de explorações indemnes ou oficialmente indemnes e sujeitos a testes de pré-movimentação;
- Proibição da utilização de pastagens onde permaneceram animais infectados durante 180 dias; e
- Limpeza e desinfecção dos meios de transporte, instalações e equipamentos que contactaram com animais infectados.

Como resultado do programa de controlo aplicado entre 2001 e 2004, verificou-se uma diminuição do número de novas explorações positivas, do número de animais positivos e do número de animais abatidos até 2003 e um ligeiro aumento destes números em 2004 e 2005, justificado pela transição gradual dos rebanhos para o programa de erradicação (DGV, 2010a; Saraiva, 2007) e pela intervenção de animais que se encontravam em epidemiovigilância (Coelho, 2007).

As medidas de profilaxia e polícia sanitária implementadas pelo actual programa de erradicação estão descritas no Anexo I. As normas para a classificação sanitária das explorações e para a manutenção, subida ou descida do estatuto sanitário das mesmas estão descritas no Anexo II e são complementadas pelos esquemas do Anexo III.

Segundo Vaz & Ellis (1997), o progresso lento na erradicação da brucelose dos pequenos ruminantes prende-se com o conhecimento limitado dos produtores acerca da brucelose e das vias de transmissão e de disseminação desta doença para o Homem e entre animais, entre outros aspectos. Além disso, os autores apontam a frequência e intervalo entre teste e retestagem inadequados, o atraso no pagamento das indemnizações por animais abatidos e a existência de rebanhos de média ou grande dimensão como factores contribuintes para o insucesso na erradicação da doença, nessa primeira fase do plano de erradicação.

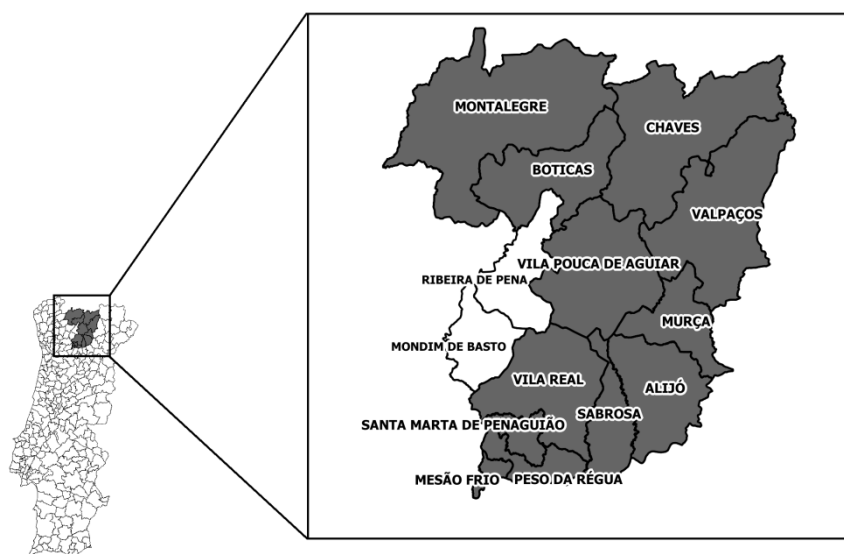


**Esquema 1** Programa Especial de Erradicação de Brucelose dos Pequenos Ruminantes para Trás-os-Montes. Os resultados do CFT estão expressos em USCEE

# Parte III – Estudo da Brucelose dos Pequenos Ruminantes na DIV de Vila Real

## 1 Caracterização da Divisão de Intervenção Veterinária de Vila Real

A Divisão de Intervenção Veterinária de Vila Real (DIV VR) é um serviço descentralizado da Direcção de Serviços Veterinários da Região do Norte (DSVRN). Enquanto DIV, compete-lhe representar a DSVRN nos concelhos de Alijó, Boticas, Chaves, Mesão Frio, Montalegre, Murça, Peso da Régua, Sabrosa, Santa Marta de Penaguião, Valpaços, Vila Pouca de Aguiar e Vila Real (Figura 1.1), assegurando os processos, praticando os actos de competência da DSVRN e executando as acções e serviços definidos por esta. Adicionalmente, a DIV VR é ainda a DIV responsável pela coordenação, na área geográfica da DSVRN, da execução do Plano Nacional de Saúde Animal, integrando os processos de avaliação e detecção dos riscos sanitários, incluindo os respectivos sistemas de informação (Despacho 8974/2007, de 17 de Maio).



**Figura 1.1** Concelhos administrados pela DIV de Vila Real (Distrito de Vila Real)

Em 2009 existiam 5 Organizações de Produtores Pecuários (OPP) na DIV de Vila Real: Boticas, Chaves, Montalegre, Tarouca e Vila Pouca de Aguiar. Em 2010 foi criada a OPP Associação Bons e Valentes, que passou a englobar grande maioria dos sócios pertencentes à OPP de Chaves e alguns sócios da OPP de Montalegre (observação registada no PISA.net com base em comunicação pessoal de O. Chaves e A. P. Figueiras, Novembro 2010). O Anexo IV é constituído por uma tabela com a distribuição dos Inquéritos Epidemiológicos analisados por Concelho e por OPP. Todos produtores inquiridos estavam associados a uma OPP.

## **2 Estudo de Caso: Focos de Brucelose em Pequenos Ruminantes na D.I.V de Vila Real**

### **2.1 Materiais e métodos**

Os dados analisados foram obtidos a partir dos elementos de gestão do Plano de Erradicação da Brucelose registados no PISA.net. e de Inquéritos Epidemiológicos (IE). Estes foram realizados pelos Médicos Veterinários da Divisão de Intervenção Veterinária de Vila Real em explorações que tiveram animais positivos nos testes oficiais de controlo para a Brucelose nos anos 2008, 2009 e 2010.

Foram introduzidos e analisados 138 IE realizados em 2009 e em 2010 na DIV de Vila Real, sendo que cada IE corresponde a uma exploração diferente. No entanto, embora o número de IE analisados corresponda à totalidade dos IE realizados em 2009 e em 2010, o número de explorações positivas nesses anos foi ligeiramente superior, retratando os inquéritos analisados 97,9% dos focos de 2009 e 42,6% dos focos de 2010. O período em estudo compreendeu uma fase de alteração do modelo de IE, verificando-se a supressão de algumas questões e a adição de novas. A análise que foi possível fazer da presença de factores de risco conhecidos foi assim realizada sobre o total de IE, sem ter em conta o ano da sua realização.

Os dados dos inquéritos epidemiológicos foram complementados e confirmados com dados do PISA.net, relativamente ao número e espécie dos animais saneados, número de animais positivos, resultados da bacteriologia, classificações sanitárias, data de intervenção sanitária e data de recolha e abate dos animais seropositivos. Estes dados foram também extraídos relativamente aos anos de 2006, 2007 e 2008, resultando numa base de dados por exploração contendo informação sobre 138 rebanhos.

Apesar de os Inquéritos Epidemiológicos analisados neste trabalho terem sido realizados nos anos 2009, 2010 e 2011, muitos correspondem a focos de brucelose (explorações com animais positivos pela primeira vez) ocorridos em anos anteriores, desde 2007, e alguns correspondem ainda a explorações crónicas (explorações continuamente com animais positivos ao longo dos anos). Em 2009 os IE foram realizados utilizando o Modelo n.º 266 da DGV, e a partir de 2010 utilizando o Modelo n.º 836 da DGV (Tabela 2.1).

Vinte IE do Mod. 266/DGV e 17 IE do Mod. 836/DGV foram actualizados através de novos inquéritos realizados em 2010 ou 2011 relativamente a:

- número de animais na exploração;
- número de animais vacinados;
- número de animais positivos nos testes de controlo oficial realizados na última intervenção sanitária;

- número de dias entre o teste e o abate dos animais positivos;
- envio de material para laboratório;
- resultado do teste microbiológico; e
- classificação sanitária.

As explorações sujeitas a inquéritos consistindo em actualização de dados correspondem a explorações crónicas em que se tenta apurar as razões para a repetida presença de animais positivos aos testes de diagnóstico.

**Tabela 2.1** Distribuição dos IE analisados e actualizações de seguimento do foco por ano de realização e ano em que ocorreu o foco

<b>Ano de Realização do Inquérito</b> Ano em que houve Animais Positivos	<b>Número de Inquéritos</b> <b>Analisados</b>	<b>Número de Inquéritos</b> <b>Actualizados</b>
<b>2009 - Mod. n.º 266/DGV</b>	<b>80</b>	<b>20</b>
2007	12	3
2008	22	4
2009	33	10
Expl. Crónicas	13	3
<b>2010 - Mod. n.º 836/DGV</b>	<b>56</b>	<b>16</b>
2007	4	
2008	3	2
2009	13	6
2010	24	5
Expl. Crónicas	12	3
<b>2011 - Mod. n.º 836/DGV</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
2010	2	1
<b>Total Geral</b>	<b>138</b>	<b>37</b>

Em apenas um inquérito realizado em 2009 (49/AC/BPR/2009) foram actualizados outros campos referentes a regime de produção, aptidão zootécnica dos animais, sazonalidade dos partos, assistência nos partos, venda de produtos da exploração, contacto com outros animais e opinião do Médico Veterinário e do proprietário quanto à origem da infecção na exploração.

Para o cálculo da prevalência e incidência da brucelose em explorações, da prevalência em animais, da cobertura vacinal e da percentagem de soros positivos ao RBT e ao CFT utilizaram-se as seguintes fórmulas:

$$a) \text{ Prevalência em explorações} = \frac{n.º \text{ de explorações positivas}}{n.º \text{ de explorações sujeitas a controlo}} \times 100$$

$$b) \text{ Incidência em explorações} = \frac{n.º \text{ de explorações novas positivas}}{n.º \text{ de explorações sujeitas a controlo}} \times 100$$

$$c) \text{ Prevalência em animais} = \frac{\text{n.º de animais positivos}}{\text{n.º de animais rastreados}} \times 100$$

$$d) \% \text{ de explorações vacinadas} = \frac{\text{n.º de explorações vacinadas}}{\text{n.º de explorações sujeitas a controlo}} \times 100$$

$$e) \% \text{ de soros positivos ao RBT (ou CFT)} = \frac{\text{n.º de soros positivos ao RBT (ou CFT)}}{\text{n.º de soros testados}} \times 100$$

Para a classificação das explorações quanto ao tamanho dos efectivos, foi considerada a classificação utilizada por Coelho (2007):

- Pequena: até 30 animais
- Média: de 31 a 149 animais
- Grande: 150 ou mais animais.

Na caracterização dos efectivos analisados quanto ao regime de produção e aptidão dos animais, apenas se estudaram os IE do modelo n.º 836 da DGV, a que se acrescentou o IE 49/AC/BPR/2009, feito em 2009, que sofreu uma actualização pelo novo modelo.

Depois da construção da base de dados, foi feita uma análise com o programa Microsoft Excel (2007). Na construção de alguns gráficos e para avaliação estatística foi utilizando o software R© (R Development Core Team, 2010).

Os mapas foram criados com o programa Quantum Gis (Quantum GIS Development Team, 2011) e para a análise espacial de agregados utilizou-se o programa SatScan™ (Kulldorff, 2011), que utilizou o Modelo Discreto de Poisson. Foram utilizados, nestes casos, os números de explorações e animais registados no PISA.net no final de cada ano de estudo.

As classes de número de explorações e número de animais dos mapas foram determinadas interactivamente utilizando a aplicação Histogram Cross Validation (Lane, 2011).

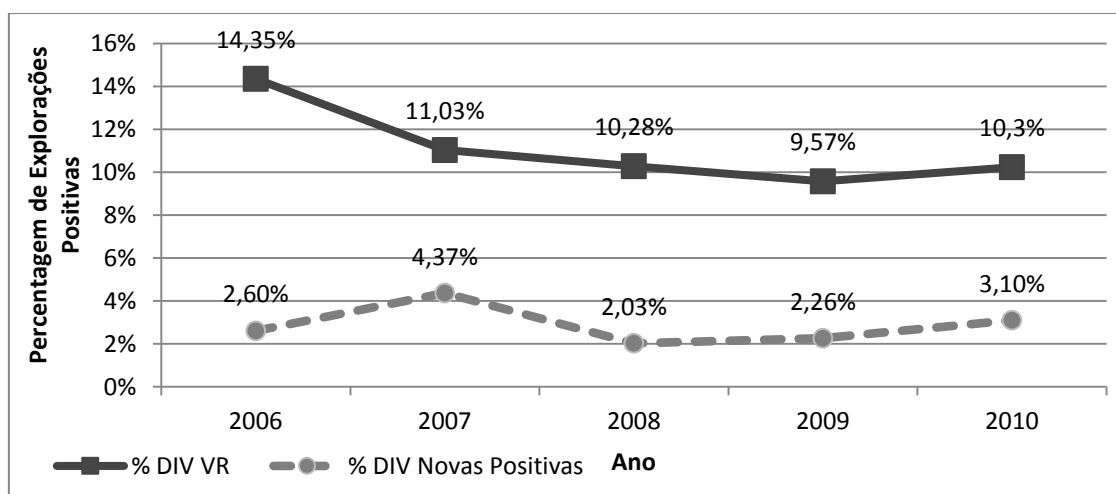
## 2.2 Resultados e discussão da análise dos dados oficiais sobre brucelose dos pequenos ruminantes na DIV de Vila Real (2006-2010)

Pela observação de Figura 2.1 constata-se que na área de acção de DIV de Vila Real e ao longo dos anos, existem mais explorações a Norte e Oeste, sendo o concelho de Chaves aquele que apresenta sistematicamente o valor mais elevado de explorações. Verifica-se a mesma tendência a nível do número de animais.

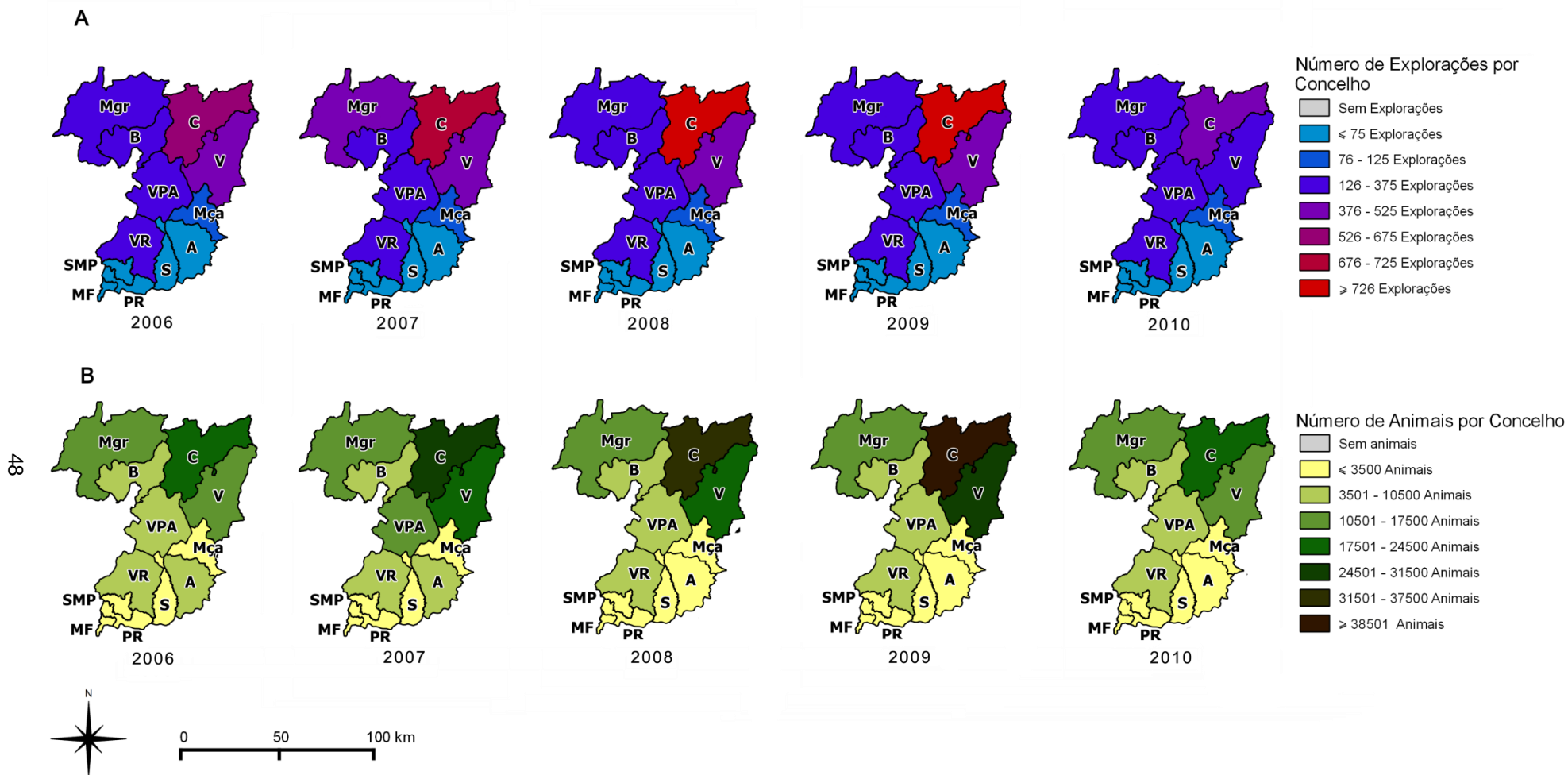
A análise dos dados relativos aos principais indicadores epidemiológicos (prevalência e incidência da brucelose) e à aplicação das medidas preconizadas no plano (vacinação de jovens, rastreio e abate, seguimento dos rebanhos positivos e confirmação de infecção através da bacteriologia) permitem identificar os aspectos que deverão merecer atenção por parte dos serviços intervenientes (serviços veterinários oficiais e OPP). Neste sentido, será nesta parte referida a análise dos dados gerais sobre a prevalência, incidência, distribuição geográfica e sobre a vacinação, serologias e abates e no capítulo seguinte (análise dos IE) será analisado o seguimento dos rebanhos e a bacteriologia, uma vez que estas acções dizem respeito apenas aos focos.

### **Prevalência e incidência da brucelose em explorações na DIV de Vila Real**

Pela análise da evolução da prevalência (proporção de explorações positivas) de brucelose na DIV de Vila Real entre 2006 e 2010 observa-se que existe uma estabilidade deste indicador de ano para ano (Gráfico 2.1), não se tendo atingido os objectivos esperados de acordo com o Plano Especial de Controlo e Erradicação da Brucelose para o ano 2010 em Trás os Montes que previa uma redução da prevalência em toda a região de forma a obter uma prevalência global de 1,5% em 2010.



**Gráfico 2.1** Percentagem de explorações positivas (Prevalência) e de explorações novas positivas (Incidência) na DIV de Vila Real entre 2006 e 2010



**Figura 2.1** Número de Explorações e Número de Animais nos concelhos administrados pela DIV de Vila Real.

Legenda: Mgr – Montalegre; C – Chaves; B – Boticas; V – Valpaços; VPA – Vila Pouca de Aguiar; Mça – Murça; VR – Vila Real; A – Alijó; SMP – Santa Marta de Penaguião; S – Sabrosa; MF – Mesão Frio; PR – Peso da Régua.

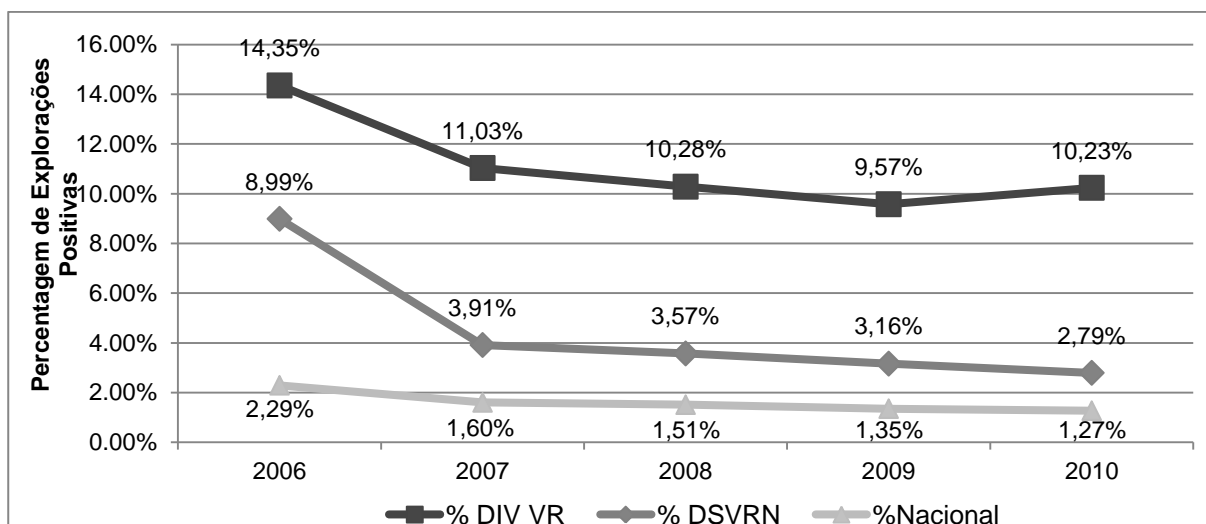
A percentagem de explorações novas positivas (incidência) sofreu também um aumento significativo em 2007, tendo diminuído logo no ano seguinte; desde 2008 que se regista uma estagnação na evolução deste indicador (Gráfico 2.1). Assim, as acções conducentes à protecção de rebanhos indemnes (biossegurança por parte dos produtores, vacinação, controlo do movimento animal, etc.) parecem não apresentar a necessária eficácia. Por outro lado o critério de determinação de exploração positiva resulta da identificação de animais positivos, ainda antes da confirmação da infecção por bacteriologia, podendo algumas explorações consistirem em falso-positivas.

Aplicando o teste de Qui-Quadrado para proporções independentes (Single Proportion) para avaliar a significância da diferença entre a prevalência de ano para ano, não se demonstraram diferenças estatísticas significativas ( $p > 0,05$ ) excepto entre 2006 e 2007 ( $p < 0,00006$ ). A diferença de prevalência de explorações positivas acumulada (2006-2010) apresentanda também um valor de  $p < 0,00006$ , como mostrado na Tabela 2.2, indicando que apesar dos avanços anuais serem reduzidos, a doença tem sido lentamente controlada.

**Tabela 2.2** Diferença estatística anual e acumulada da prevalência e incidência de brucelose dos pequenos ruminantes no período de estudo (2006-2010)

Ano	N.º Total de Explorações	Prevalência	Incidência	Valor de $p$ (Teste de Qui-Quadrado)			
				Prevalência		Incidência	
2006	2035	14,35%	2,60%	<0,00006	<0,00006	<0,00006	0,1938
2007	2176	11,03%	4,37%	0,2891		<0,00006	
2008	2121	10,28%	2,03%	0,3030		0,4983	
2009	2079	9,66%	2,26%	0,3430		0,0160	
2010	1935	10,23%	3,10%				

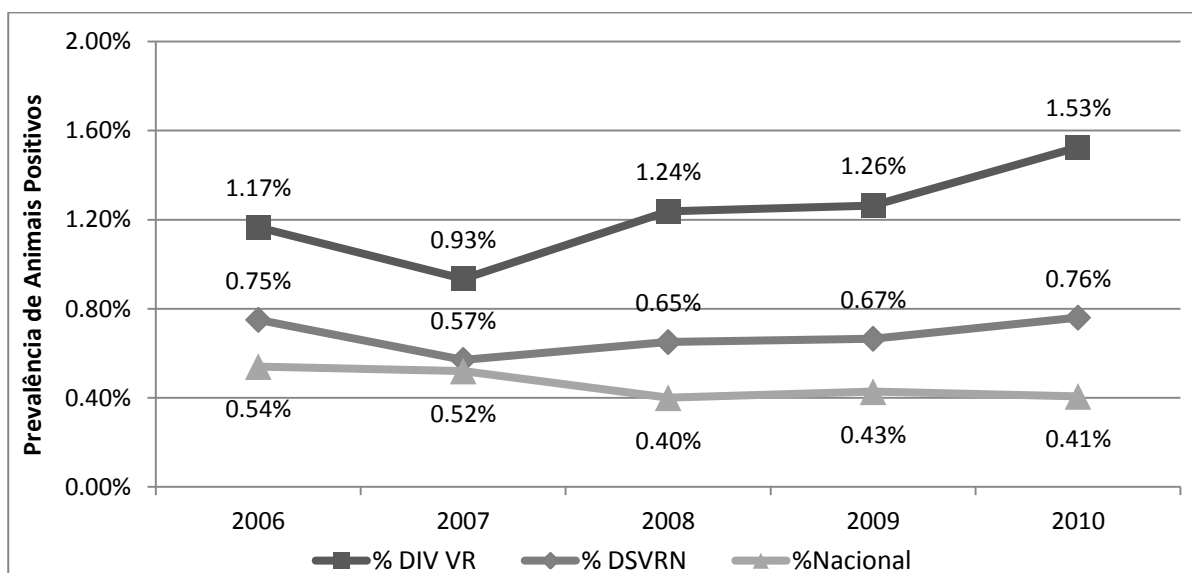
Em relação à incidência, também foram encontradas diferenças significativas entre 2006 e 2007 e entre 2007 e 2008, fruto da subida deste indicador verificada em 2007, como já referido. A falta de evolução positiva da incidência é confirmada pela ausência de diferença significativa no período 2006-2010. Os valores de prevalência de explorações positivas da Direcção de Serviços Veterinários Regionais do Norte (DSVRN) foram sempre superiores ao nível nacional para o período em estudo, sendo que a prevalência registada na DIV de Vila Real é ainda mais elevada (Gráfico 2.2). Resultados semelhantes foram registados para o período 2001-2005 pelos dados oficiais (DGV, 2010a).



**Gráfico 2.2** Percentagem de explorações positivas na DIV de Vila Real, DSVRN e Nacional entre 2006 e 2010

### **Prevalência da brucelose em animais na DIV de Vila Real**

Em relação aos animais positivos, após uma diminuição em 2007, a prevalência na DIV de Vila Real aumentou até 2010, como se observa no Gráfico 2.3. A proporção de animais positivos na DIV é superior à proporção de animais positivos a nível da DSVRN e a nível nacional.



**Gráfico 2.3** Prevalência de animais positivos na DIV de Vila Real entre 2006 e 2010.

A evolução crescente da prevalência a nível dos animais é preocupante uma vez que desde 2007 não se registam alterações dos procedimentos de diagnóstico e os focos identificados, em número crescente, apresentam um maior número de animais positivos. Na realidade, o número de animais positivos por foco em 2007 foi de 3,6 e em 2010 de 6,1.

### **Evolução geográfica da brucelose em explorações e animais na DIV de Vila Real**

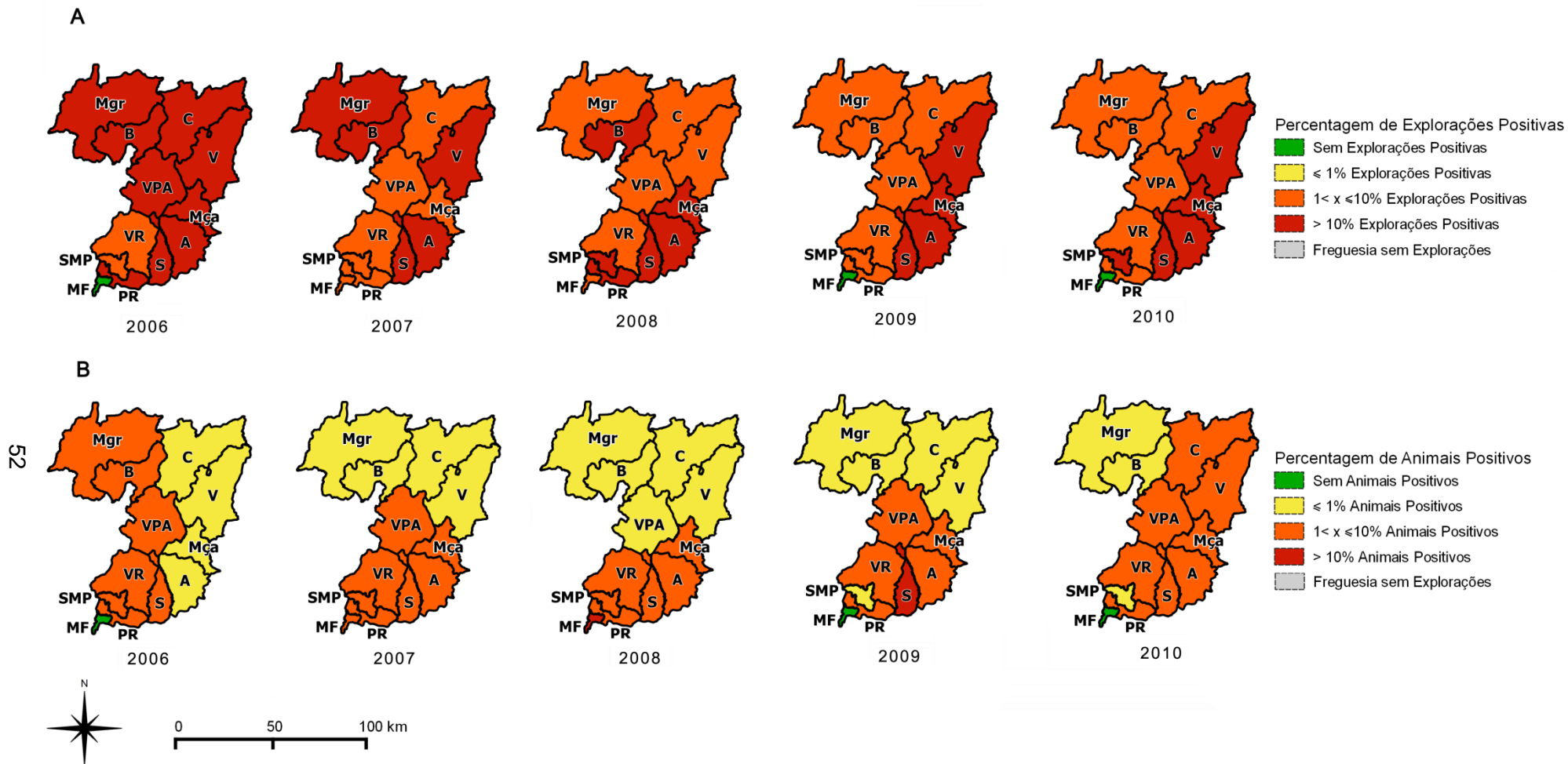
O estudo da evolução da brucelose para a área da DIV de Vila Real pode ser feito com base em áreas geográficas menores, como os concelhos. A análise destes dados a partir dos registos do PISA.net permitiu verificar que a prevalência de brucelose dos pequenos ruminantes a nível das explorações e a nível dos animais nos concelhos da DIV de Vila Real tem-se revelado elevada (> 10%) ao longo dos últimos cinco anos, contribuindo para que a DSVRN apresente valores de prevalência da doença superiores aos nacionais.

A Figura 2.2 mostra a percentagem de explorações positivas e a percentagem de animais positivos existentes em cada concelho sob a administração da DIV de Vila Real para os anos 2006 a 2010. Os mapas confirmam a informação fornecida pelos Gráficos 3.1 e 3.2 relativamente à tendência para a diminuição da prevalência da doença nas explorações na área administrativa de Vila Real, de 2006 até 2009. O mapa mostra que a doença se encontrava disseminada por toda a DIV em 2006 (confirmada pela ausência de identificação de um agregado da doença para esse ano) e que nos anos subsequentes houve sucesso no controlo da doença a Norte e Oeste da DIV.

Adicionalmente, os mapas permitem observar que, de um modo geral, a percentagem de animais positivos era maior a Oeste em 2006, tendo-se “concentrado” a Sul nos anos subsequentes. Em 2010, essa prevalência parece ter-se tornado novamente generalizada na região estudada, à excepção dos concelhos de Montalegre e Boticas, a Oeste, e Santa Marta de Penaguião e Mesão Frio, a Sul. Neste último concelho a brucelose esteve controlada em 2006, tendo havido explorações positivas em 2007 e 2008 e retomando-se a situação sem explorações positivas em 2009 e 2010. É também um dos concelhos com menor número de explorações e de animais, o que facilita a realização de intervenções sanitárias e o controlo do movimento animal pelas autoridades. O concelho de Mesão Frio (2008) e de Sabrosa (2009) representam os únicos casos em que a percentagem de animais positivos foi maior de 10%.

Os concelhos de Valpaços, Murça, Sabrosa, Santa Marta de Penaguião e Peso da Régua representam situações de não consolidação do controlo da brucelose, já que não apresentam uma diminuição ou manutenção da percentagem de explorações positivas durante o período de estudo.

As diferenças no sucesso do controlo verificadas entre os concelhos podem relacionar-se com particularidades locais da produção que permitem maior contacto entre rebanhos, com o nível de cumprimento das medidas previstas pelo programa de erradicação pelos produtores, com o cumprimento de regras pelos negociantes de gado, assim como com diferentes graus de desempenho das OPP e dos serviços veterinários oficiais. Por outro lado, como já referido, a detecção de apenas um animal positivo é suficiente para que a



**Figura 2.2** Distribuição da percentagem geral de Explorações Positivas (A) e de Animais Positivos (B) por concelho.

Legenda: Mgr – Montalegre; C – Chaves; B – Boticas; V – Valpaços; VPA – Vila Pouca de Aguiar; Mça – Murça; VR – Vila Real; A – Alijó; SMP – Santa Marta de Penaguião; S – Sabrosa; MF – Mesão Frio; PR – Peso da Régua.

exploração seja considerada positiva e contribua para o indicador de prevalência. A distinção entre resultados falso-positivos e infecção é realizada após o abate dos animais seropositivos que devem ser submetidos a bacteriologia, nestes primeiros focos, e pela observação dos resultados dos rastreios seguintes. A região de Trás-os-Montes atravessa neste momento uma fase do programa de erradicação onde se torna fundamental ter confiança no resultado do diagnóstico.

A análise de agregados (Figura 2.3) permitiu identificar agregados de freguesias com brucelose para os anos 2008, 2009 e 2010. Em 2008, foi identificado um agregado de doença que abrange várias freguesias na região Sul da área de estudo para as quais se determinou que o risco de serem positivas nesse ano era 1,82 vezes superior. Este agregado, por ocupar uma grande área geográfica, indica que a doença embora comece a ficar controlada a Norte da DIV, permanece um problema disseminado. Em 2009 o agregado identificado é muito menor em dimensão, concluindo-se que existe sucesso no controlo da brucelose na DIV e que apenas na área Sudeste existe um risco relativo significativo de ocorrência de brucelose. Em 2010, a área com maior risco relativo de ocorrência de casos de brucelose aumentou e encontra-se mais a Norte que no ano anterior.

Os agregados identificados em 2009 e 2010, embora apresentem uma menor dimensão que o agregado de 2008, apresentam maior risco das explorações se tornarem positivas (5,07 e 2,33 respectivamente). O agregado de 2009 abrange principalmente o concelho de Sabrosa e freguesias adjacentes dos concelhos de Alijó, Santa Marta de Penaguião e Peso da Régua. O agregado de 2010 envolve todo o concelho de Murça e freguesias dos concelhos de Valpaços, Vila Pouca de Aguiar, Alijó, Sabrosa e uma freguesia de Vila Real.

Para os anos 2006 e 2007 não foram encontrados agregados de brucelose.



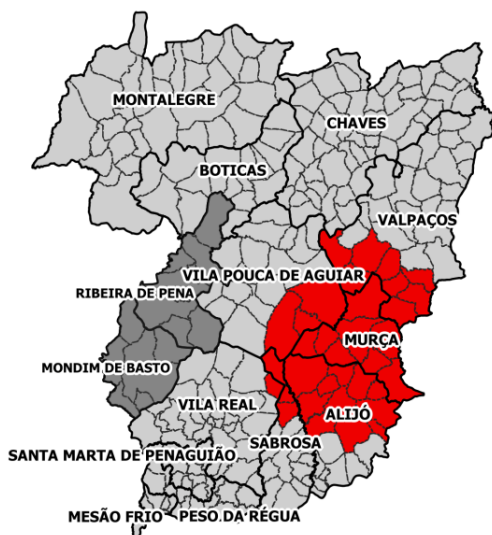
### 2008

População.....	1036
Número de casos observados.....	119
Número de casos esperados.....	86.76
Observados / esperados.....	1.37
Risco relativo.....	1.82
Valor p.....	0.014



### 2009

População.....	4
Número de casos observados.....	15
Número de casos esperados.....	3.15
Observados / esperados.....	4.77
Risco relativo.....	5.07
Valor p.....	0.0011



### 2010

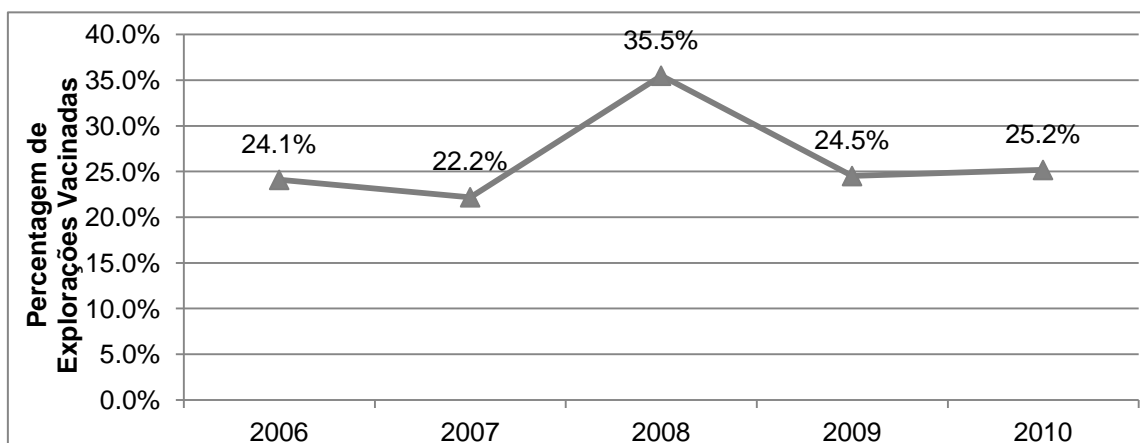
População.....	334
Número de casos observados.....	61
Número de casos esperados.....	31.79
Observados / esperados.....	1.92
Risco relativo.....	2.33
Valor p.....	0.00031

**Figura 2.3** Agredados de Explorações Positivas identificados em 2008, 2009 e 2010.

Foram incluídas as freguesias Ribeira de Pena e Mondim de Basto para as quais, apesar de não pertencerem à DIV de Vila Real, havia dados disponíveis.

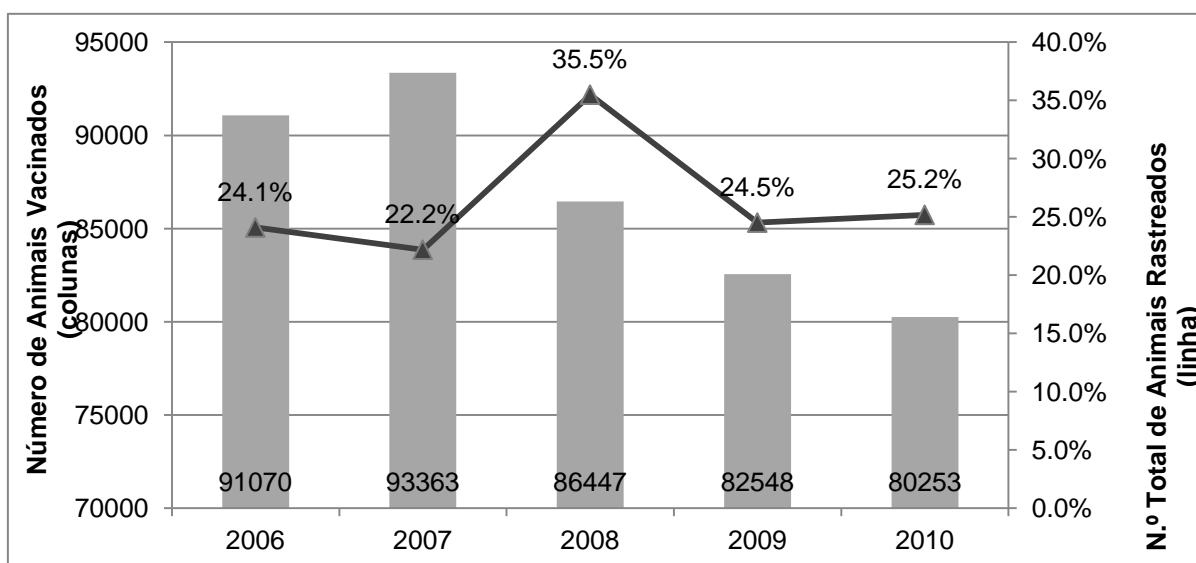
## Vacinação na DIV de Vila Real

O Erro! A origem da referência não foi encontrada. mostra que nos cinco anos em estudo a percentagem de explorações vacinadas relativamente ao total variou entre 24,1% e 25,2%, observando-se um pico em 2008.



**Gráfico 2.4** Evolução da percentagem de explorações onde se procedeu à vacinação na DIV de Vila Real entre 2006 e 2010.

A cobertura vacinal em explorações é reduzida, variando entre um mínimo de 22,2% e um máximo de 35,5% no período em estudo. Em 2007 ocorreu um aumento do número de animais vacinados, sofrendo uma descida acentuada nos dois anos subsequentes e voltando a aumentar em 2010. Esse aumento corresponde também ao ano em que a DIV apresentou o maior número de animais rastreados, tendo esse valor decrescido de forma uniforme nos anos subsequentes e aumentado novamente em 2010 (Gráfico 2.5).



**Gráfico 2.5** Número de animais rastreados e de animais vacinados na DIV de Vila Real entre 2006 e 2010

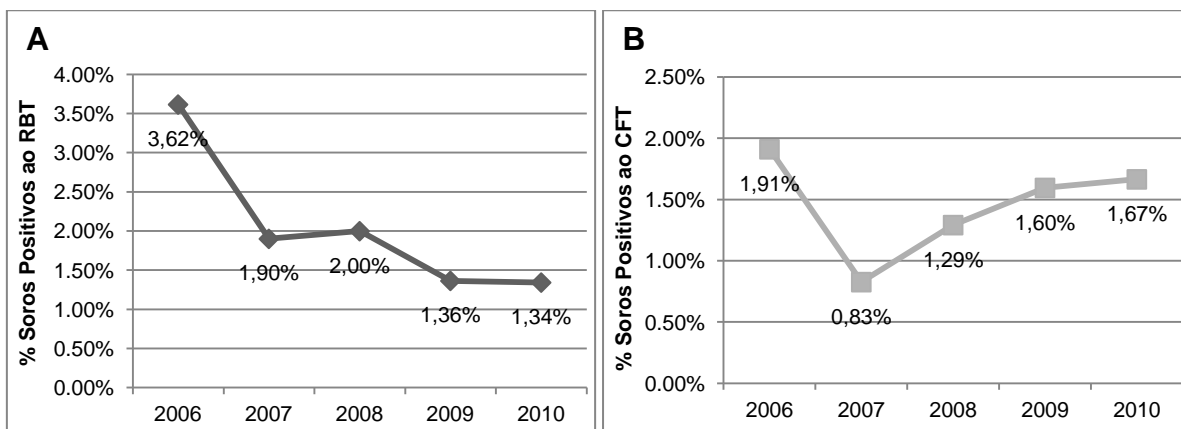
O número decrescente de animais rastreados pode revelar uma diminuição da cobertura do rastreio mas pode também estar associado a um real decréscimo da população de pequenos ruminantes no distrito de Vila Real. No entanto, essa descida não acompanharia as tendências na região de Trás-os-Montes, onde se tem verificado um aumento da população de pequenos ruminantes entre 2006 e 2010 (Instituto Nacional de Estatística, 2011a, 2011b).

Admitindo uma taxa de substituição de 15 a 20% ao plano de vacinação de jovens abrangesse todas as explorações, teríamos cerca de 12040 a 16050 animais a vacinar. Assim, com 6288 vacinas aplicadas, a taxa de cobertura vacinal global em 2010 foi de 39,2% a 52,2%. Uma vez que o plano de controlo e erradicação especial para a região, no que diz respeito à vacinação (primeiro objectivo), é a sua aplicação a animais jovens de explorações não indemnes, é necessário contabilizar apenas o efectivo de reposição nas explorações não indemnes, que de acordo com o relatório técnico da DIV de Vila Real é de 29 038 animais. Assim 15 a 20% deste efectivo cifra-se em 4356 a 5808 animais, sendo necessário adicionar a este número o efectivo de reposição das explorações novas-positivas em 2010. Pode-se de toda a forma concluir que de uma maneira geral existe um bom cumprimento do plano de vacinação em relação ao plano de controlo e erradicação especial. Faltaria apenas verificar se de facto os dados de vacinação se referem apenas a estes rebanhos, como se infere, pois parte das vacinas podem ser aplicada, muito acertadamente, em rebanhos em risco. Esta análise será consolidada desta forma, no capítulo da análise dos IE, em relação às explorações-foco.

### **Rastreio, resultados serológicos e abate dos animais seropositivos na DIV de Vila Real**

A cobertura do rastreio na DIV de Vila Real obtida através da análise dos relatórios técnicos produzidos pelo PISA indicava em 2009 75,93% de rebanhos rastreados e 87,66% dos animais rastreados. Os relatórios técnicos disponíveis referentes ao ano de 2010 continham explorações repetidas que tinham trocado de OPP e revelando 91,04% de cobertura de rebanhos e 102,36% de cobertura de animais.

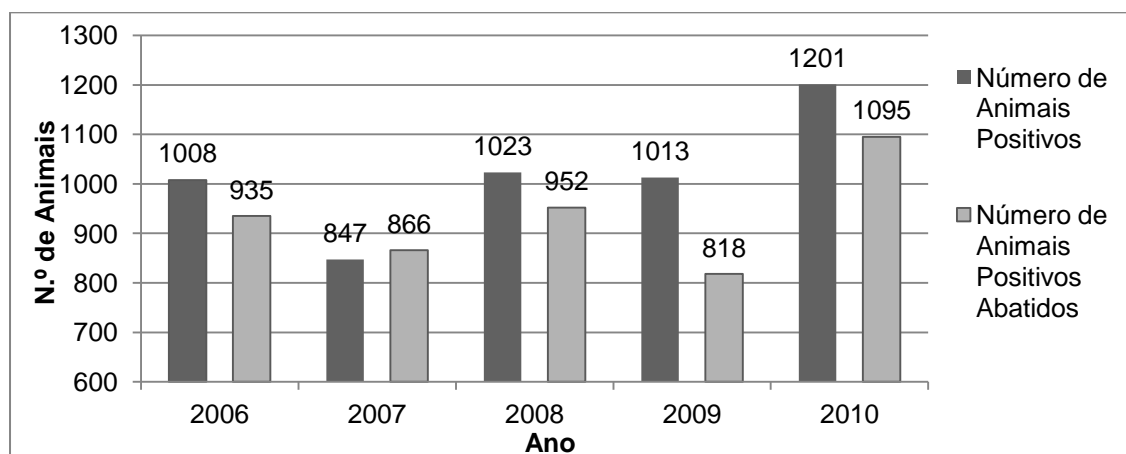
O Gráfico 2.6 apresenta os resultados das serologias dos testes Rosa de Bengala (RBT) e Fixação do Complemento (CFT), evidenciando a simultânea diminuição da percentagem de animais positivos ao RBT e ao CFT em 2007. Nos anos subsequentes, esses valores parecem progredir em sentidos opostos, verificando-se a diminuição geral da percentagem de animais positivos ao RBT e o aumento consistente da percentagem de animais positivos ao CFT. Estes dados são de difícil interpretação uma vez que o RBT é um teste de sensibilidade superior (Blasco et al., 1994; Ferreira et al., 2002), questionando-se se estarão relacionados com situações de cronicidade da doença ou a aspectos relativos à qualidade do diagnóstico laboratorial.



**Gráfico 2.6** Percentagem de animais positivos ao RBT (A) e ao FCT (B) na DIV de Vila Real entre 2006 e 2010

Na interpretação destes quadros deve ser tomado em conta que a percentagem de amostras positivas à FCT foi calculada tomando como denominador apenas os soros submetidos a estas provas, o que em parte dos casos eram soros já positivos ao RBT que precisariam de confirmação pela FCT. Assim enquanto o quadro A representa a serologia positiva na população, o quadro apresenta uma amostra enviesada na direcção dos animais positivos.

O número de animais positivos abatidos foi sempre inferior ao número de animais considerados positivos para a brucelose, excepto em 2007. A maior diferença entre estes valores registou-se em 2009 (Gráfico 2.7). Este facto pode dever-se a várias circunstâncias como a transição de animais positivos no final do ano que são abatidos no ano seguinte ou a impossibilidade de identificação de animais sem marca auricular aquando do levantamento, assim como a morte do animal. Os abates de animais coabitante são estão contabilizados neste gráfico. Procedeu-se ao abate total do efectivo de 2 explorações em 2008 e de 3 explorações em 2010.



**Gráfico 2.7** Número de Animais Positivos e de Animais Positivos Abatidos na DIV de Vila Real entre 2006 e 2010

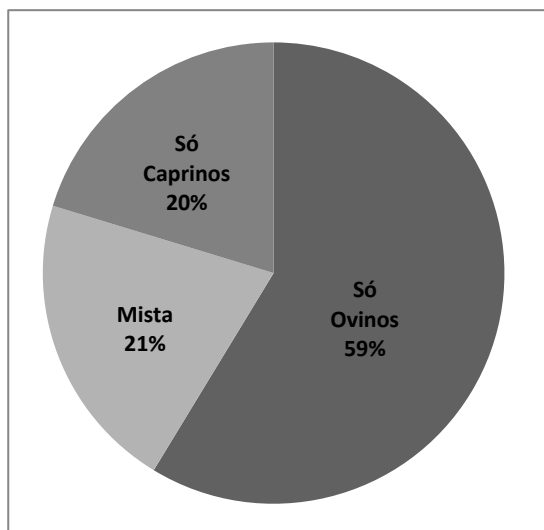
## 2.3 Resultados de Inquéritos Epidemiológicos realizados entre 2009-11

As informações extraídas dos IE e as conclusões retiradas da sua análise ajudam na identificação da presença de reconhecidos factores de risco e na avaliação da sua importância relativa na introdução, manutenção e disseminação da doença na área administrativa da DIV de Vila Real.

### 2.3.1 Caracterização dos Efectivos Analisados

#### 2.3.1.1 Composição dos efectivos

Com base na composição do efectivo no momento de realização do Inquérito Epidemiológico verificou-se que a maioria (79%) dos rebanhos das explorações estudadas era constituída por apenas uma espécie; esta circunstância é considerada Megersa (2011) como um factor protector da doença no caso de sistemas de produção extensivos. Verificou-se ainda que a maioria (59%) dos rebanhos era constituída unicamente por ovinos (Gráfico 2.8) e que em 22 explorações também existiam bovinos (Tabela 2.3). Cinquenta e sete produtores responderam haver outras espécies animais presentes na exploração, tais como cães (*Canis lupus familiaris*), cavalos (*Equus caballus*), burros (*Equus asinus*), gatos (*Felis silvestris catus*) e galinhas (*Gallus gallus domesticus*). Dos IE realizados em 2009, que contém especificamente a questão sobre a presença de cães, foram registadas 62 explorações com cães.



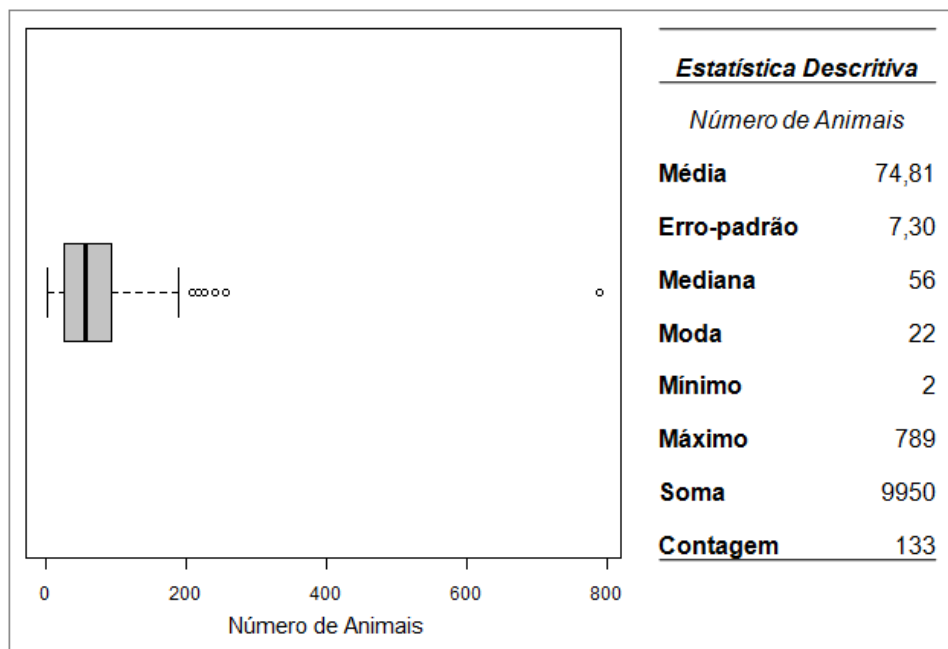
**Gráfico 2.8** Composição dos 138 rebanhos estudados à data de realização do IE

**Tabela 2.3** Composição da população por tipo de rebanho, dimensão média e presença de outras espécies

Composição do Rebanho	N.º de Explorações	Total de Animais	Média	Mínimo	Máximo	N.º de Explorações com Bovinos	N.º de Explorações com Outros Animais
Só Ovinos	78 (58,65%)	4557	58	2	256	10	38
Só Caprinos	27 (20,30%)	2445	91	12	241	5	10
Mista	28 (21,05%)	2948	105	11	789	7	9
<b>TOTAL</b>	<b>133</b> <b>(100%)</b>	<b>9950</b>	<b>75</b>	<b>2</b>	<b>789</b>	<b>22</b>	<b>57</b>
Sem dados	5	<i>Excluídos dos cálculos</i>					

### 2.3.1.2 Tamanho dos efectivos

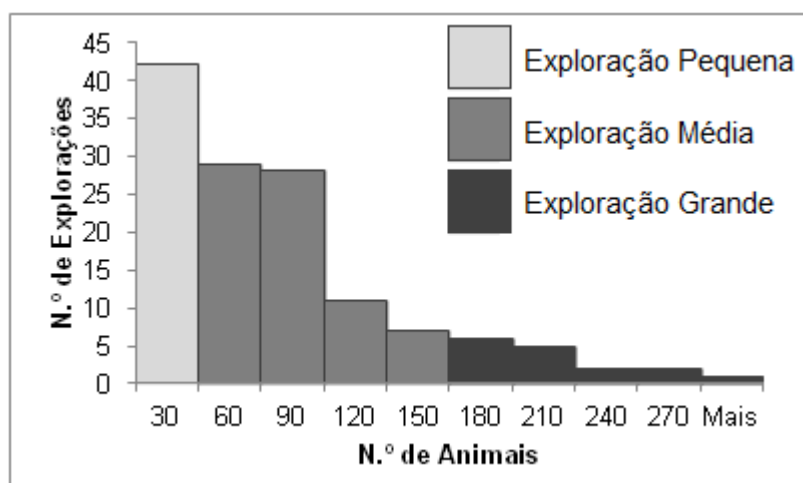
Os rebanhos das explorações analisadas têm em média 75 animais, sendo a exploração mais pequena constituída por 2 animais da espécie ovina; a maior exploração tem um efectivo misto e é composta por 789 animais. Existem 6 explorações com mais de 194 animais, respectivamente com 209, 218, 225, 241, 256 e 789 animais (Tabela 2.3 e Figura 2.4).



Foram excluídos dos cálculos 5 IE sem dados.

**Figura 2.4** Gráfico de *Boxplot* e estatística descritiva relativos ao tamanho (número de animais) dos rebanhos

É possível verificar, através da observação do Gráfico 2.9 e da Tabela 2.4 que a maioria (75 explorações) dos efectivos analisados é de tamanho médio, tendo a maioria efectivos menos de 90 animais.



**Gráfico 2.9** Distribuição das explorações por número de animais no efectivo e classificação de acordo com o tamanho

Apesar da maioria dos rebanhos positivos estudados ser de tamanho médio, a existência de rebanhos de muito grande dimensão (> 194 animais) pode constituir um factor de risco de brucelose para essas explorações, tal como descrito por Vaz & Ellis (1997) e Robinson (2003). Cerca de metade destes rebanhos de grandes dimensões é constituída por ovinos e caprinos (rebanho misto). Assim, para estes rebanhos com animais positivos constata-se que os grandes rebanhos são maioritariamente mistos, os médios seguem a distribuição das espécies similar ao total e os pequenos são maioritariamente constituídos por ovinos.

**Tabela 2.4** Número de explorações de acordo com o tamanho e composição dos efectivos.

Composição do Efectivo	Classificação da Exploração						TOTAL	
	Pequena		Média		Grande			
Só Ovinos	30	71,5%	45	60,0%	3	18,8%	<b>78</b>	<b>58,6%</b>
Só Caprinos	4	9,5%	17	22,7%	6	37,5%	<b>27</b>	<b>20,3%</b>
Mista	8	19,0%	13	17,3%	7	43,8%	<b>28</b>	<b>21,1%</b>
<b>TOTAL</b>	<b>42</b>	<b>100%</b>	<b>75</b>	<b>100%</b>	<b>16</b>	<b>100%</b>	<b>133</b>	<b>100%</b>
<i>Sem dados</i>	5		<i>Excluídos dos cálculos</i>					

Os bovinos estão presentes em cerca de 19% das explorações estudadas e, tendo em conta que esta espécie também é susceptível à infecção por *B. melitensis* e chega mesmo a excretar grandes quantidades da bactéria no momento do parto ou aborto e no leite, conduzindo a uma forte contaminação ambiental (Godfroid, 2005), é importante realizar sempre o rastreio destes animais quando se faz o saneamento dos pequenos ruminantes;

neste caso, a existência de um plano de erradicação de brucelose nesta espécie assegura o seu rastreio regular.

As características das explorações estudadas relativamente ao tamanho, constituição e aptidão zootécnica identificadas neste trabalho estão de acordo com os estudos realizados por Gonçalves (1997) e Coelho (2007), sendo os rebanhos principalmente constituídos por ovinos, de pequena a média dimensão e principalmente com aptidão para a produção de carne.

## 2.3.2 Maneio dos rebanhos

### 2.3.2.1 Caracterização do tipo de produção

Na caracterização dos efectivos analisados quanto ao regime de produção e aptidão dos animais, apenas se estudaram os IE do modelo n.º 836 da DGV (2010), a que se acrescentou o IE 49/AC/BPR/2009, feito em 2009, que sofreu uma actualização pelo novo modelo.

Em todas as explorações os rebanhos são criados em regime extensivo, excepto uma que trabalha em regime semi-intensivo (Tabela 2.5). A principal aptidão dos efectivos é a produção de carne; apenas 2 efectivos apresentam aptidão mista (carne e leite).

**Tabela 2.5** Classificação e distribuição das explorações quanto ao regime de produção e à aptidão zootécnica dos animais

Regime de Produção		Aptidão Zootécnica	
Classificação	N.º de Explorações	Classificação	N.º de Explorações
Extensivo	46	Carne	51
Semi-intensivo	1	Leite	0
Intensivo	0	Mista	2
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>Total</b>	<b>53</b>
<i>Sem dados</i>	12	<i>Sem dados</i>	6

“Sem dados” corresponde a IE sem resposta para estas questões.

Nos IE do modelo de 2009 não constavam as questões relativas ao sistema de produção utilizado e à aptidão zootécnica dos animais, mas foi possível averiguar que 14 dos produtores fazem a ordenha das fêmeas. O facto de poucos produtores procederem à ordenha relaciona-se com a principal aptidão para a produção de carne dos animais. No entanto, 8 produtores fazem a ordenha manualmente (Tabela 2.6), o que representa um importante factor de risco de transmissão de brucelose para o produtor.

Importa aqui referir que embora apenas 2 dos rebanhos estudados tenham sido identificados como tendo aptidão mista (produção de carne e leite) se verifica que na prática a ordenha e fabrico de queijo (ver 2.3.6) são realizadas em pelo menos 13 explorações.

**Tabela 2.6** Sistema de Ordenha utilizado pelas explorações

Ordenha		
Sistema	N.º de Explorações	%
Manual	8	10,5%
Mecânico	6	7,9%
Não Ordenha	62	81,6%
<b>Total</b>	<b>76</b>	<b>100%</b>
<i>Sem dados</i>	4	-

### 2.3.2.2 Contactos de vizinhança entre efectivos

Os dados registados para o número de explorações vizinhas e a distância entre explorações não foram recolhidos de maneira uniforme. No total de 138 IE disponíveis, 15 inquéritos não tinham resposta quanto ao número de vizinhos (foram excluídos dos cálculos), 47 discriminavam o número de explorações vizinhas e em 63 respostas (57%) revelou-se a existência de contacto com todas as explorações da freguesia (Tabela 2.7). Neste último caso, o Médico Veterinário não indicou o número total de explorações, considerando que o maneio das explorações é comunal. Com efeito, a prática de pastoreio comunal (baldios) e a prática do sistema de vezeira são comuns nesta região. Este maneio comunitário dos animais dificulta o controlo do movimento e das trocas de animais entre as explorações. O isolamento dos rebanhos constitui uma tarefa árdua (senão impossível) nesta região pelo que se justifica em pleno o esforço de definição de unidade de intervenção sanitária como sendo composta pela unidade epidemiológica, isto é, composta por todos os animais com frequentes contactos entre si e atribuindo a todos esses rebanhos a mesma classificação sanitária.

O PISA.net foi consultado quanto ao número de explorações existentes na freguesia. Embora esse valor à data da consulta possa não corresponder à realidade no momento em que o IE foi feito, a diferença não será significativa. Assim constatou-se que apenas 13 (12%) se encontram isoladas (sem explorações vizinhas). O Anexo VI (Material Complementar) contém informação sobre o número total de explorações vizinhas.

Considerou-se haver risco de contacto quando a(s) exploração(ões) vizinha(s) têm estatuto sanitário inferior a B3 e/ou se essas explorações tiveram também animais positivos no ano em que o IE foi realizado. O risco foi considerado desconhecido quando foi impossível identificar as explorações vizinhas. A Tabela 2.7 mostra que a grande maioria (89%) apresenta risco de aquisição da infecção por contactos de vizinhança, uma vez que são contíguas de explorações com estatuto sanitário inferior a B3. É de referir que em 3 das explorações não foi possível averiguar se havia risco, dado que as explorações vizinhas não estavam identificadas no IE.

**Tabela 2.7** Contactos com outras explorações e existência de risco de contacto

Tipo de Contacto	Nº de Explorações	Risco de Contacto		
		Presente	Ausente	Desconhecido
Isoladas	13	-	-	-
Com Contactos	110	98	9	3
↳ Número discreto de explorações vizinhas	47	38	6	3
↳ Contacto com todas as explorações da Freguesia	63	60	3	-
<b>Total</b>	<b>123</b>	<b>98</b>	<b>9</b>	<b>3</b>
Sem dados	15	<i>Excluídos dos cálculos</i>		

### 2.3.2.3 Outros contactos com ruminantes

A grande maioria das explorações estudadas apresenta algum tipo de contacto, para além do contacto com a vizinhança directa, com outros animais domésticos, quer através de explorações vizinhas, partilha de pastos e caminhos ou através de vedações. Esse contacto dá-se, na maioria dos casos, com outros pequenos ruminantes sendo também comum nesta região a partilha de instalações por rebanhos de diferentes proprietários.

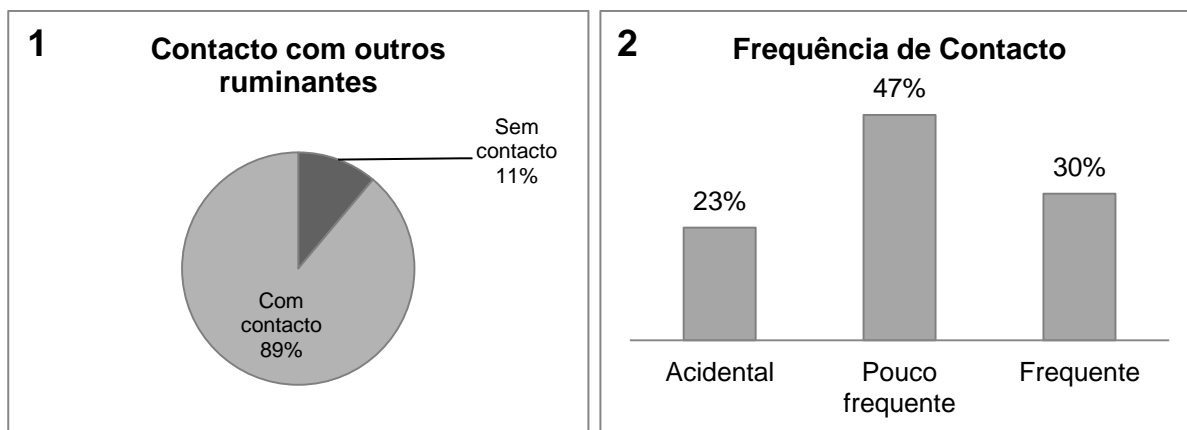
A partir dos IE realizados em 2009 (n=80), foi possível averiguar que os rebanhos de 40 produtores (50%) partilham pastos onde contactam com outros rebanhos, tendo sido considerado pelo Médico Veterinário que existe um risco de infecção em 35 desses casos. Apenas um produtor respondeu fazer transumância. O sistema de vezeira é praticado por 3 explorações da Freguesia de Cabril, podendo-se considerar provável que a grande maioria dos rebanhos dessa freguesia partilhem os pastos. Dos 40 produtores que responderam não partilhar pastos, 6 afirmaram partilhar caminhos com outros rebanhos, sendo que 2 desses representam risco de transmissão de brucelose (Tabela 2.8).

Assim, verifica-se que neste conjunto de 80 rebanhos positivos apenas 34 não apresentam contactos na rotina diária.

**Tabela 2.8** Explorações com partilha de pastos e caminhos e presença de risco de transmissão de Brucelose (IE realizados em 2009)

	Nº de explorações	Risco de transmissão de Brucelose		
		Presente	Ausente	Desconhecido
Partilha de pastos	<b>40</b>	<b>34</b>	<b>4</b>	<b>2</b>
↳ Prática do sistema de vezeira	3	2	0	1
↳ E partilha de caminhos	1	1	0	0
Sem partilha de pastos	<b>40</b>			
↳ Mas com partilha de caminhos	6	2	0	4

A partir dos IE do Modelo n.º 836 da DGV e um IE realizado em 2009 e actualizado pelo novo modelo (n=59), verificou-se que a maioria dos rebanhos (89%) tem contacto com outros ruminantes que não os da própria exploração ou da vizinhança (Gráfico 2.10). Esse contacto tem um carácter maioritariamente pouco frequente, embora 30% dos rebanhos contacte frequentemente com outros rebanhos.



**Gráfico 2.10** Percentagem (Painel 1) e frequência de contacto com outros ruminantes (Painel 2)

**Tabela 2.9** Presença de risco de transmissão de Brucelose durante o contacto com outros ruminantes, por espécie animal

Espécies	N.º de explorações		Risco no Contacto		Sem dados
			Presente	Ausente	
Pequenos Ruminantes	19	42,2%	14	1	4
Ovinos	12	26,7%	9	2	1
Caprinos	4	8,9%	3	1	
PR + Bovinos	9	20,0%	6	3	
Bovinos	1	2,2%		1	
<b>Total Geral</b>	<b>45</b>		<b>32 (80%)</b>	<b>8 (20%)</b>	<b>5</b>

PR – Pequenos Ruminantes

O contacto efectua-se principalmente com rebanhos de ovinos e/ou caprinos (42,2%); 26,7% dos rebanhos contacta apenas com rebanhos de ovinos e 8,9% apenas com caprinos (Tabela 2.9). Dez produtores afirmaram que os seus rebanhos contactam com bovinos (apenas 1 contacta somente com bovinos). A maioria dos contactos apresenta risco de infecção para o rebanho (80%); esta tendência parece ser independente da espécie, excepto no único caso da exploração que apenas contacta com bovinos, em que estes não constituem risco (Tabela 2.9).

Tabela 2.9

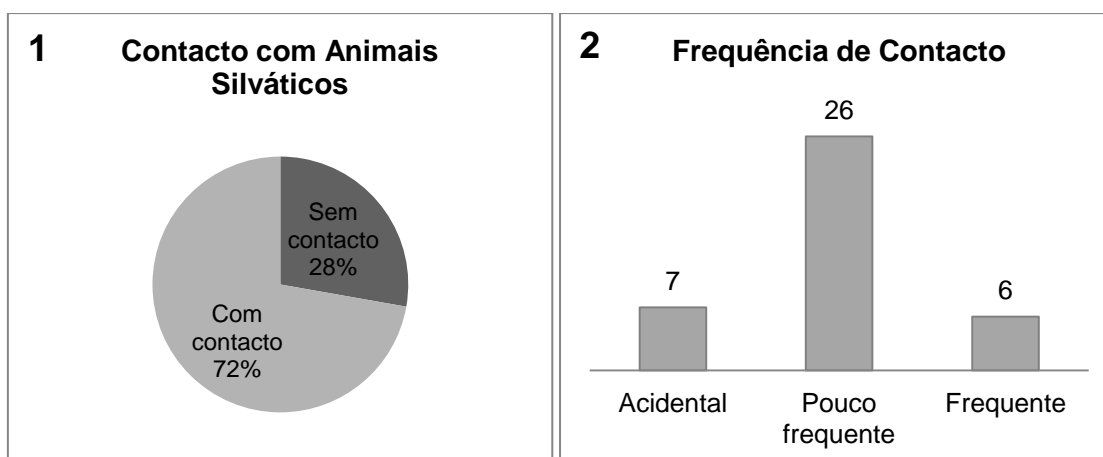
O contacto realiza-se em pastos e caminhos (38%), apenas em pastos (31%) ou apenas nos caminhos (31%). Dentro de cada categoria, alguns produtores ainda afirmaram haver outras situações de contacto, nomeadamente através de vedações, através de bebedouros e durante a transumância, como mostrado na Tabela 2.10.

**Tabela 2.10** Situações de contacto com outros ruminantes.

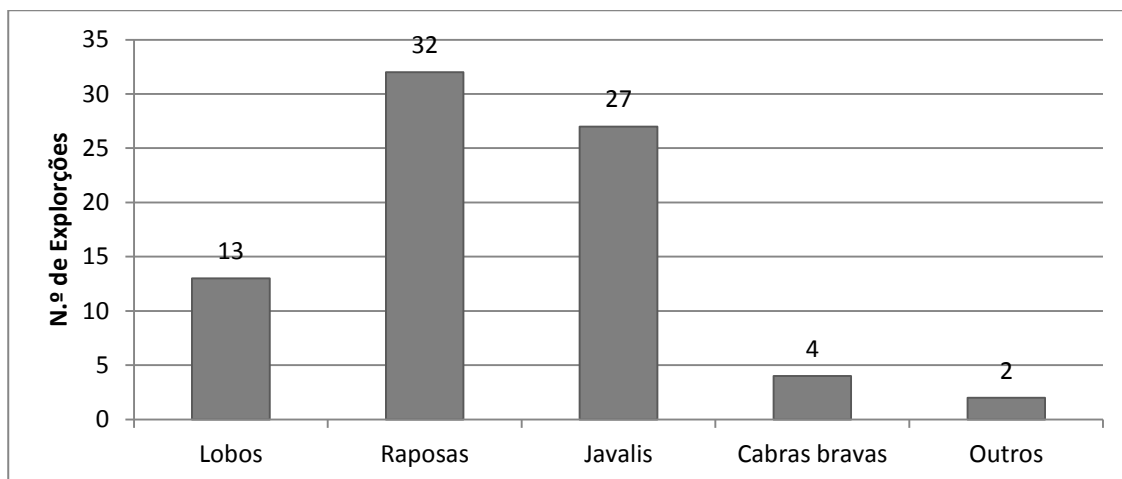
Locais de contacto	N.º de explorações	%
Caminhos e Pastos	15	38,5%
↳ Bebedouros	1	2,6
↳ Vedações	1	2,6
↳ Transumância	1	2,6
Caminhos	12	30,8%
↳ Vedações	1	2,6
Pastos	12	30,8%
↳ Vedações	1	2,6
Sem dados	19	-

#### 2.3.2.4 Contacto com espécies silváticas

Analisando ainda o mesmo conjunto de IE (n=59), observou-se que maioria dos rebanhos (72%) tem contacto com animais silváticos. Esse contacto tem um carácter principalmente pouco frequente (Gráfico 2.11).



**Gráfico 2.11** Contacto com animais silváticos. O Painel 1 mostra a percentagem de explorações que tem contacto com animais silváticos e o Painel 2 descreve a frequência desse contacto.



**Gráfico 2.12** Espécies silváticas contactadas.

O Gráfico 2.12 mostra que as espécies silváticas mais frequentemente contactadas foram raposas (32 explorações), javalis (27 explorações) e lobos (13 explorações). Os rebanhos de 4 explorações contactaram com cabras bravas e os rebanhos de 2 explorações contactaram com outras espécies silváticas (nomeadamente cervídeos silvestres e esquilos).

O contacto com espécies silvestres é comum entre as explorações estudadas embora ocorra numa frequência baixa. A espécie que constitui um perigo directo de transmissão da doença é a cabra selvagem, mas os contactos com esta espécie resumem-se a um total de 4 ocorrências registadas nos IE. Além disso, como constado por Muñoz (2010), a importância dos cervídeos para a epidemiologia da brucelose por *B. melitensis* é reduzida. Os lobos e as raposas são animais silvestres comuns na região de Trás-os-Montes e, tal como os cães, podem ter acesso a secundinas e disseminar a bactéria pelos pastos ao arrastar fetos ou recém-nascidos capturados. Os Médicos Veterinários que realizaram os inquéritos consideraram que as espécies silváticas contribuíram de forma relevante para a introdução da doença em algumas explorações, por não lhes ser possível identificar outra causa para a ocorrência de animais positivos.

#### **2.3.2.5 Entrada e saída de animais**

Dos IE analisados, foi contabilizado um total de 20 entradas de animais nas explorações: 3 entradas de ovinos, 6 de caprinos, 2 de bovinos e 2 entradas cuja espécie dos animais não estava identificada nos inquéritos. Catorze dessas entradas foram acompanhadas de guias de trânsito; 3 produtores afirmaram não possuir guia de trânsito. A tabela do Anexo VI dispõe a distribuição das entradas de animais por espécie animal e por concelho nas explorações estudadas.

Registou-se que os produtores não realizam a quarentena dos animais adquiridos.

Quanto à origem dos animais que entraram nas explorações, foi possível averiguar que 16 foram adquiridos a outros produtores, 2 dos quais são desconhecidos. Em 7 casos dos 14 produtores conhecidos os animais introduzidos constituem um risco documentado de entrada da doença (animal proveniente de uma exploração com estatuto sanitário inferior a B3) na exploração (Tabela 2.11). Ainda se constatou que 1 animal foi adquirido a um negociante, e apresentava risco de introdução da doença na exploração, que 1 animal entrou na exploração por empréstimo (risco desconhecido) e que 2 tinham origem desconhecida.

No entanto, referira-se que 4 das explorações em que houve risco de introdução da doença com a entrada de animais apresentavam o estatuto B2 ou B2.1 no ano anterior à entrada dos animais e que, em determinadas condições, é permitido o trânsito entre explorações B2, de modo a não incentivar o trânsito sem documentação.

**Tabela 2.11** Origem dos animais que deram entrada nas explorações e risco de introdução da Brucelose através dessa entrada.

Origem dos Animais	Risco da Origem dos Animais			
	Presente	Desconhecido	Ausente	Total Geral
Produtor	7		7	14
Produtor não identificado		2		2
Negociante	1			1
Empréstimo		1		1
Desconhecida		2		2
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>20</b>

Apenas 41 inquiridos apresentaram dados sobre a saída de animais das explorações: 9 responderam que houve saída de animais e 32 responderam que não houve saída (97 sem resposta). Das 9 explorações em que houve saída de animais, apenas 2 apresentaram guias de trânsito (Tabela 2.12). Duas das explorações de destino dos animais eram explorações B3 e receberam animais provenientes de explorações que tiveram animais positivos no ano em que o IE foi feito.

**Tabela 2.12** Caracterização da Exploração de Saída relativamente aos resultados do saneamento no ano em que o inquérito foi realizado.

Exploração de Saída			Espécies que saíram	Classificação Sanitária da Exploração de Destino	Guia de Trânsito
Classificação Sanitária	Animais Positivos *	Isolamento do Agente <i>Brucella melitensis</i>			
B2	-	-	Ovinos	Não identificada	Não
B2	4	Negativo	Caprinos Bovinos	Não identificada	Sim
B2	2	-	Ovinos	Não identificada	Sim
B3S	0	-	Não identificada	B2	s/d
B3	0	-	Não identificada	B3	s/d
B3S	1	Negativo	Não identificada	B2	s/d
B2	4	Negativo	Não identificada	Não identificada	s/d
B2	15	Negativo	Não identificada	B2	s/d
B2.1	26	Positivo	Ovinos Caprinos Bovinos	B3 e Sem Classificação	s/d

\*Animais positivos no ano de realização do Inquérito Epidemiológico. s/d – sem dados.

A entrada de animais numa exploração constitui risco de introdução da doença num rebanho, especialmente quando essa entrada não é controlada e o risco da origem dos animais é desconhecido. Embora os casos registados nos IE de entradas com risco ou de risco desconhecido tenham sido muito poucos (13 em 138), este valor pode não corresponder à situação real de aquisição e introdução de animais nestas explorações. Na região de Trás-os-Montes o movimento não controlado de animais constitui uma das principais preocupações dos serviços veterinários e as respostas dos produtores a esta questão podem ser influenciadas pelo receio da aplicação de penalizações pelo que deve ser ainda recolhida evidência documental e verificada a ID de todos os animais presentes na exploração. O mesmo se aplica à saída de animais e ao risco de disseminação da doença a outras explorações. Refira-se ainda que, segundo a opinião dos Médicos Veterinários que realizaram os inquéritos, em 25 casos a “Introdução de animais” na exploração contribuiu para a introdução/manutenção da doença nas explorações. A introdução não declarada dos animais dá-se muitas vezes pela entrada de machos reprodutores, tendo sido averiguado que em 25% dos casos estudados se procede à compra ou troca destes animais nas épocas de cobrição. É comum o retorno dos reprodutores à exploração de origem no final da época e os produtores não consideram este tipo de troca animal como um movimento a declarar às autoridades.

### 2.3.2.6 Maneio reprodutivo

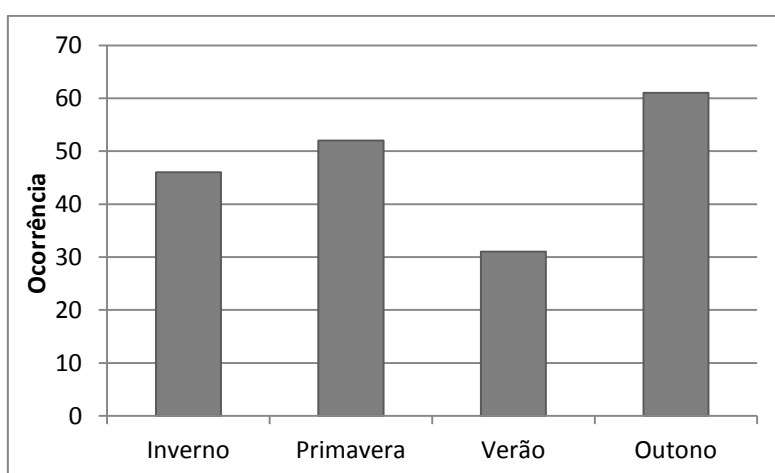
Quanto à origem dos animais reprodutores, observando a Tabela 2.13, verifica-se que 20 explorações compraram animais reprodutores, 96 fizeram apenas auto-repovoamento e 14 efectuaram trocas de reprodutores (com outros proprietários/vizinhos (n=8), pedindo emprestado (n=1) ou utilizando o sistema de vezeira (n=3)), como acima referido.

**Tabela 2.13** Origem dos animais reprodutores.

Origem dos Reprodutores	N.º de Explorações	%
Compra	20	15,38
Troca	13	10,00
Criação	97	74,62
<b>Total</b>	<b>130</b>	<b>100,00</b>
Sem dados	8	-

Nenhum produtor realiza inseminação artificial nos pequenos ruminantes (apenas um respondeu que utiliza esta técnica em bovinos) nem transferência de embriões.

Nas explorações sujeitas a IE em 2009, 28 (35%) revelou-se que apresentam partos ao longo de todo o ano, enquanto 52 explorações apresentam rebanhos com sazonalidade reprodutiva com um ou dois partos por ano, sendo a época de partos concentrada principalmente no Outono e no Outono e Primavera, respectivamente. O Gráfico 2.13 mostra que, no geral, ocorrem mais partos no Outono, Primavera e Inverno.



**Gráfico 2.13** Distribuição dos partos por estação do ano para os IE do Mod. n.º 266 da DGV. N=80.

Relativamente aos IE do modelo 266/DGV, apenas se conseguiu averiguar que em 36 das explorações os partos são sazonais e que em 18 os partos ocorrem de forma contínua ao longo do ano.

A fraca sazonalidade dos partos registrada em cerca de um terço das explorações estudadas representa um risco de contaminação praticamente contínuo das instalações e dos pastos e um risco contínuo de aquisição da doença por parte dos produtores ou pastores, sendo que 32 (63%) dos casos estudados presta assistência aos partos. Além disso, dificulta muito a intervenção das OPP consistindo na vacinação, já que a existência de animais jovens em idade de vacinação é praticamente constante. Deste modo, muitos animais ultrapassam a idade de vacinação, resultando em menores taxas de cobertura vacinal e presença de animais susceptíveis no rebanho.

Ainda relativamente aos IE realizados em 2009, constatou-se que os partos ocorrem, para a maioria (n=66) das explorações, no estábulo e na pastagem (Tabela 2.14). Note-se que as fêmeas parem em local privado (estábulo e estábulo/cerca) apenas em 11 (13,75%) explorações, enquanto nas restantes explorações o parto ocorre no local onde a fêmea estiver no momento da parição, tal como apontado por Gonçalves em 1997.

**Tabela 2.14** Distribuição do local onde ocorrem os partos (IE do Mod. n.º 266 da DGV), n=80.

Local do parto	N.º de Explorações	%
Estábulo	11	13,8%
↳ Cerca	1	1,3%
Pastagem	3	3,8%
↳ Cerca	1	1,3%
Estábulo e Pastagem	66	82,5%

Quando perguntados acerca da assistência das fêmeas durante o parto (pergunta constante no Mod. n.º 836/DGV e num IE do Mod. n.º 266/DGV actualizado), 32 produtores responderam que prestam assistência aos partos, como referido anteriormente, e 19 responderam que não assistem aos partos.

Numa análise de ambos os modelos de inquérito foi constatado que em 74% dos casos as fêmeas são isoladas dos outros animais da exploração no período periparto (Tabela 2.15).

**Tabela 2.15** Explorações que realizam o isolamento das fêmeas no período periparto

Isolamento das fêmeas	N.º de Explorações	%
Sim	96	74
Não	34	26
<b>Total</b>	<b>130</b>	<b>100</b>
<i>Sem dados</i>	8	-

Foi registado o número de dias que as fêmeas ficam separadas (n=64), verificando-se que em 58 (90,6%) explorações as fêmeas são separadas dos outros animais no próprio dia do parto e em 6 (9,4%) são separadas pelo menos um dia antes do parto (1 a 30 dias). Trinta e sete (57,8%) produtores responderam que separam as fêmeas durante pelo menos 8 dias; o tempo máximo de separação das fêmeas paridas registado foi 90 dias e o mínimo foi 1 dia; os tempos de separação mais frequentemente registados foram 30 (n=13) e 8 (n=11) dias. Embora a maioria dos produtores proceda ao isolamento das fêmeas gestantes no período periparto, este isolamento é realizado no próprio dia do parto em cerca de 90% dos casos e na sua maioria as fêmeas são mantidas isoladas durante pelo menos 8 dias. A experiência de campo indica que esse isolamento não é eficaz, uma vez que é realizado dentro das mesmas instalações e os animais mantêm um contacto próximo. Além disso a presença constante de cães nas explorações contribui para a dispersão de secundinas por outras áreas das instalações.

### **2.3.2.7 Alimentação e abeberamento**

Nos inquéritos realizados em 2009, os produtores foram inquiridos quanto à origem da água dada aos animais da exploração. Os resultados expressos na Tabela 2.16 mostram que apenas 17% dos produtores inquiridos utiliza a rede pública como fonte única de água para os animais. Cinquenta e quatro produtores afirmaram utilizar comedouros privados.

**Tabela 2.16** Origem da água fornecida aos animais.

<b>Origem da Água</b>	<b>N.º de Explorações</b>	<b>%</b>
Águas superficiais	28	36
Águas subterrâneas	37	47
Água da Rede Pública	13	17
<b>Total</b>	<b>78</b>	<b>100</b>
<i>Sem dados</i>	2	-

Foram registados 13 casos de fornecimento de água da rede pública aos animais. No entanto, esta resposta não especifica as condições em que a água é fornecida e torna-se pertinente referir que a utilização de fontanários e outras formas de abeberamento comunitário não é incomum (observação pessoal), pelo que apesar da fonte de água ser segura (rede pública) existe risco de contaminação inter-exploração na medida em que os tanques são eventualmente partilhados sem controlo. A presença de comedouros nas explorações pode ser vista como uma boa prática de higiene e maneio uma vez que evita a administração de alimentos no solo e podem ser higienizados. Por outro lado, se a limpeza das instalações e utensílios por parte do proprietário for descuidada podem contribuir para a manutenção da doença dentro de uma exploração pela permanência de materiais contaminados.

### 2.3.2.8 Isolamento de animais

Quando inquiridos sobre a existência de estruturas para isolamento de animais (modelo n.º 836 da DGV), 46 produtores, entre 52 inquiridos, reponderam possuir meios para separar os animais caso seja necessário (partos, doença, etc.). Os animais positivos à brucelose são recolhidos pelos serviços veterinários no momento em que é feita a informação ao produtor da implementação/manutenção de sequestro e da sua marcação.

### 2.3.3 Higiene das instalações, ambiental e animal

Embora os organismos do género *Brucella* apenas se repliquem no hospedeiro e a sua transmissão se dê principalmente de forma directa entre os animais, trata-se de uma bactéria bastante resistente no meio ambiente, podendo sobreviver durante largos períodos de tempo, especialmente em meios frios, húmidos e abrigados da luz solar. A higiene das instalações contribui de forma importante para a que a doença não se mantenha num rebanho e é considerada por Corbel (2006) uma das medidas de controlo mais importantes. Os resultados apresentados seguidamente mostram que grande maioria dos produtores procede à limpeza e desinfeção dos currais (92%).

#### 2.3.3.1 Higiene das explorações

No modelo de IE de 2009, averiguou-se que 77 produtores realizam a limpeza do curral, dos quais 38 (49% do total de inquiridos) o faz mais de 6 vezes por ano. Os produtores que não efectuam a limpeza dos currais também não os desinfectam, enquanto 70% (54 em 77) dos produtores que os limpam efectuam também a sua desinfeção (Tabela 2.17).

**Tabela 2.17** Frequência de limpeza e de desinfeção dos currais (IE do Mod. n.º 266/DGV, n=80)

Frequência de Limpeza do Curral	N.º de explorações	%	Frequência de Desinfeção	N.º de explorações	%	
Sem dados	3	-	Não faz	23	30	
Anual	7	51	Anual	7	45	70
2 - 6x/ano	32		2 - 6x/ano	28		
7 - 12x/ano	16	49	7 - 12x/ano	10	25	
>12x/ano	22	>12x/ano	9			
<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>100</b>	<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>100</b>	

No modelo de IE utilizado a partir de 2010, as perguntas sobre a frequência de limpeza e de desinfeção associaram-se na pergunta “Frequência de Limpeza&Desinfeção”, cujas respostas estão também reunidas na Tabela 2.18.

**Tabela 2.18** Frequência de limpeza e desinfecção (IE do modelo n.º 836 da DGV, 2010 n=58).

Frequência de Limpeza e Desinfecção	N.º de Explorações	%	
Não faz	1	2,0	
Anual	10	20,4	
2 - 6x/ano	25	51,0	77,5
7 - 12x/ano	7	14,3	
>12x/ano	6	12,2	
<b>Total</b>	<b>49</b>	<b>100</b>	
<b>Não aplicável*</b>	<b>3</b>	<b>-</b>	
<i>Sem dados</i>	6	-	

\*Explorações em que animais se encontram ao ar livre (dormem no exterior).

A limpeza e desinfecção (L&D) das instalações é realizada por 98% dos produtores (48 em 49 inquiridos), embora dois deles tenham respondido que, apesar de efectuarem a limpeza das instalações, não a desinfectam; 13 produtores fazem-na com uma frequência de mais de 6 vezes por ano.

Em conclusão, para o total de IE analisados, pode afirmar-se que cerca de 81% (102 em 126) do total de produtores inquiridos procede à limpeza e desinfecção dos currais embora apenas cerca de 25% (32 em 126) a realize numa frequência superior a 6 vezes por ano, são poucos os produtores que não realizam a limpeza e desinfecção (19%) ou que a realizam de forma insuficiente (13,5%), sendo que a maioria (67,5%) procede de forma correcta. A higiene dos animais e das instalações foi considerada boa a moderada pelos Médicos Veterinários que procederam à realização dos IE. Analisando as 61 respostas dadas em ambos os modelos relativamente ao produto utilizado na desinfecção, observou-se que os produtos mais utilizados são a Creolina (utilizada isoladamente ou associada a cal viva ou lixívia), um produto eficaz, e a Lixívia (Tabela 2.19). Cinco produtores não sabiam identificar o produto utilizado, tendo por isso respondido “produto da farmácia” ou “desinfectante”.

**Tabela 2.19** Produtos utilizados na desinfecção das instalações (n=48)

Produtos utilizados na desinfecção	N.º de Explorações	%
Creolina	36	75,0
Creolina associada a cal viva	5	10,4
Creolina associada a lixívia	8	16,7
Lixívia	4	8,3
Cal	3	6,3
Não identificado	5	10,4

Os veterinários das OPP têm papel importante no aconselhamento acerca da frequência de limpeza e desinfecção e dos produtos a utilizar para estes fins, já que, além de serem responsáveis pela supervisão de acções de limpeza e desinfecção após abates sanitários totais, realizam várias visitas às explorações e são aqueles que maior contacto têm com os produtores e com quem estes acabam por estabelecer maiores relações de confiança. Dever-se-ia incentivar os todos funcionários das OPP a aconselhar e apoiar os produtores no que diz respeito à aplicação de medidas de biossegurança.

### 2.3.3.2 Desinsectização e desratização

Nos IE do modelo n.º 266 da DGV os produtores foram inquiridos quanto à frequência de desinsectização e desratização das instalações e quais os produtos utilizados para esse fim. Observou-se, tal como evidenciado na Tabela 2.20, que 39 dos produtores inquiridos praticam desinsectização (49%), dos quais apenas 3 (4% dos produtores) a realiza continuamente e 9 (11%) a realizam mais de 6 vezes por ano. Os produtores recorrem quer a produtos de aplicação nos animais quer a produtos de aplicação nas instalações, sendo o Pecosanol (10 produtores) e as “fitas” (6 produtores) os produtos mais utilizados; 12 produtores não sabem que produto utilizam e 1 respondeu utilizar um desparasitante interno (Tabela 2.21).

**Tabela 2.20** Distribuição do número de explorações por frequência com que realizam a desinsectização das instalações.

Frequência de Desinsectização	N.º de Explorações	%	
Não faz	40	51	
Não regular	1	1	49
Anual	13	16	
2 - 6x/ano	13	16	
7 - 12x/ano	4	5	
>12x/ano	5	6	
Contínua	3	4	
<b>Total</b>	<b>79</b>	<b>100</b>	
<i>Sem dados</i>	1	-	

**Tabela 2.21** Produtos utilizados na desinsectização.

Produto de desinsectização		N.º de Explorações
Nome Comercial	Princípio Activo	
Fitas	(Cola sem insecticida)	6
Creolina	Cresol	4
Lindano	-	3
Mafú	Butóxido de piperonilo, Tetrametrina	2
Agita	Tiametoxame	2
Cal	Óxido de cálcio	1
Pecusanol	Diazinão	10
Ivomec	Ivermectina	1
Seponver Plus	Mebendazol, Closantel	1
Não sabe	-	12

A maioria dos produtores não procede à desratização das instalações. Apontaram-se 24 produtores que realizam desratização, 19 dos quais a realizam continuamente. A maioria (18 produtores) utiliza pastilhas para este fim (Tabela 2.22 e Tabela 2.23).

**Tabela 2.22** Distribuição do número de explorações por frequência de desratização.

Desratização	N.º de explorações	%
Não faz	55	70
Anual	4	5
2 - 6x/ano	0	0
7 - 12x/ano	0	0
>12x/ano	1	1
Contínua	19	24
<b>Total</b>	<b>79</b>	<b>100</b>
<i>Sem dados</i>	<i>1</i>	<i>-</i>

**Tabela 2.23** Produtos utilizados na desratização.

Produto desratização	N.º de Explorações
Pastilhas	18
Granulado	2
Trigo roxo	1
Trovisco	1
Remédio próprio	1
Cola	1

### 2.3.3.3 Destino das camas e estrumes

Nenhum produtor respondeu possuir nitreira (76 respostas) (questão constante apenas no modelo n.º 266 da DGV).

Quarenta e seis produtores (79,3%) responderam que o destino dado ao estrume/chorume era a distribuição imediata em terrenos (biofertilizante) e 3 afirmaram enterrar esses produtos (modelo n.º 836 da DGV). Em Trás-os-Montes não é incomum a comercialização de estrumes, como pagamento do arrendamento de terrenos, por exemplo.

#### **2.3.3.4 Higiene geral das instalações e dos animais**

Os Médicos Veterinários que realizaram os IE de ambos os modelos, avaliaram as condições de higiene dos animais e/ou instalações; observou-se que cerca de metade das explorações foi classificada como tendo boas condições de higiene e a outra metade como tendo condições satisfatórias; apenas uma foi considerada como tendo uma higiene insuficiente. Em 3 IE não foi possível ver os animais, pois tinham saído com o pastor e em 10 IE esta resposta não estava disponível.

#### **2.3.3.5 Eliminação dos produtos do parto e/ou aborto**

Em análise dos 138 IE, observou-se que 77 (56%) produtores responderam enterrar as secundinas do parto ou os produtos do aborto; 40 (35%) afirmaram que os cães têm acesso às secundinas.

### **2.3.4 Caracterização da Brucelose nas Explorações Estudadas**

#### **2.3.4.1 Classificação Sanitária**

A Tabela 2.24 mostra a Classificação Sanitária da exploração no ano em que houve animais positivos, observando-se que a maioria das explorações estava classificada como B2 ou B3, tendo sido excluídos 33 casos correspondentes a explorações crónicas.

**Tabela 2.24** Classificação Sanitária das explorações sujeitas a IE no ano em que houve animais positivos (A) na altura da realização do IE (B).

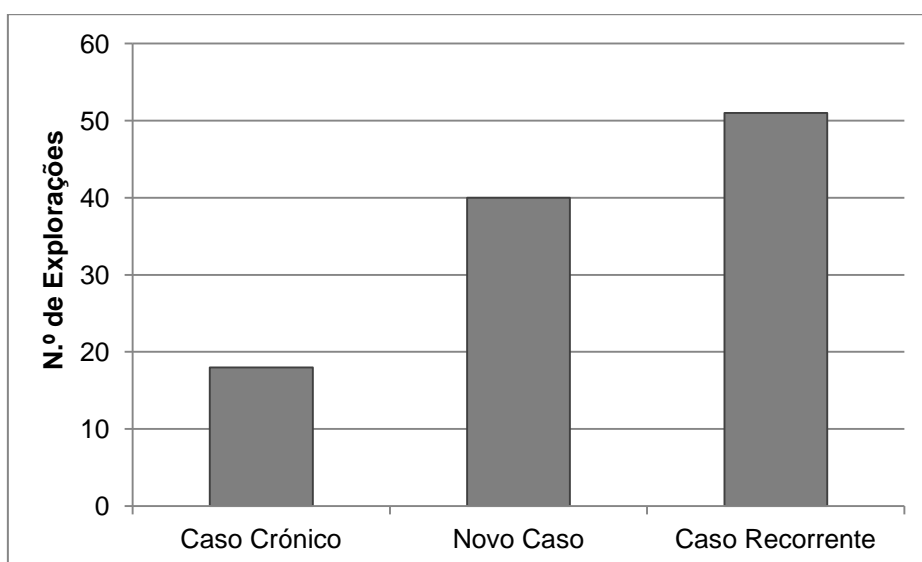
<b>A</b>		<b>B</b>	
<b>Classificação Sanitária</b>	<b>N.º de Explorações</b>	<b>Classificação Sanitária</b>	<b>N.º de Explorações</b>
B2	47	B2	33
B2.1	9	B2.1	92
B3	34	B3	1
B3S	4	B3S	12
<b>Total</b>	<b>105</b>	<b>Total</b>	<b>138</b>

Relativamente à classificação sanitária das explorações na altura em que o IE foi realizado verifica-se que a maioria das explorações estava classificada em B2.1. e as restantes explorações estavam classificadas em B2 ou B3S, excepto uma. A exploração com classificação B3 refere-se a uma exploração com animais positivos em 2008 mas cujo IE foi realizado apenas em 2009, altura pela qual, graças à ausência de animais positivos, subiu de estatuto. A diferença entre as classificações sanitárias no ano de realização do IE e as classificações sanitárias no ano em que houve animais positivos demonstra o atraso na realização dos IE às explorações foco.

As explorações estudadas foram ainda classificadas quanto à evolução da positividade dos rebanhos da seguinte forma:

- Novo caso: exploração sem brucelose (sem animais positivos) pelo menos nos 3 anos anteriores ao ano em que teve positivos.
- Caso recorrente: exploração que vem alternando a sua classificação entre positiva e negativa.
- Caso crónico: exploração que é sempre positiva pelo menos em 4 anos consecutivos.

O Gráfico 2.14 mostra que cerca de metade das explorações consistiam em casos recorrentes da doença e que 40 explorações (37%) constituem casos novos de doença. Foram excluídos 29 IE para os quais a inexistência de informação completa sobre a positividade das explorações não permitiu fazer a classificação.



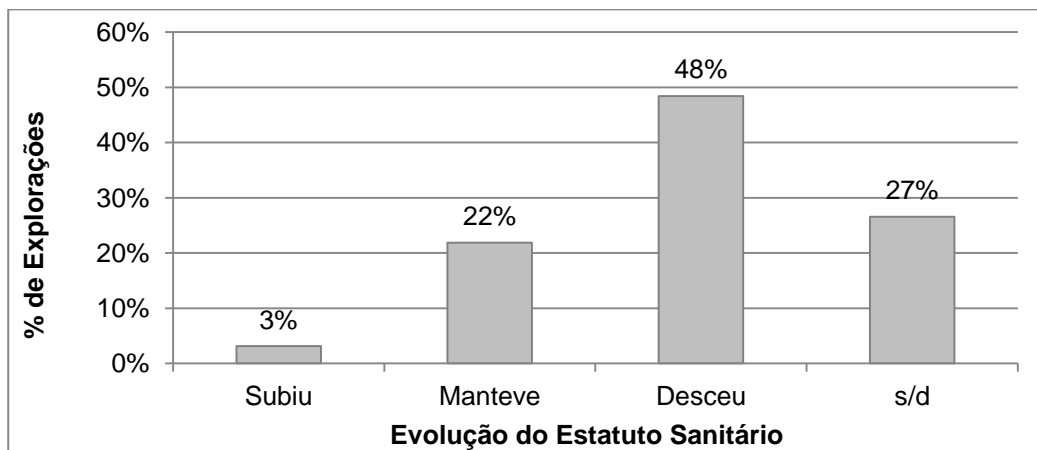
**Gráfico 2.14** Classificação das explorações forma quanto à evolução da positividade dos rebanhos.

A grande maioria das explorações sujeitas a IE consistia em casos novos ou recorrentes, cuja classificação sanitária era, na grande maioria dos casos, B2 (incluindo B2.1), como demonstrado na Tabela 2.24.

#### **2.3.4.2 Evolução Sanitária**

A partir de uma análise geral dos inquéritos realizados em 2009, foi possível determinar a evolução sanitária para o biénio correspondente ao ano em que houve animais positivos e o ano seguinte. O Gráfico 2.15 mostra que o estatuto sanitário de 48% das explorações desceu no biénio em causa e que em 22% das explorações o estatuto sanitário manteve-se. Em 3% dos casos analisados ocorreu subida de estatuto sanitário, correspondendo estas explorações a casos em que provavelmente houve animais com reacção falso-positiva aos

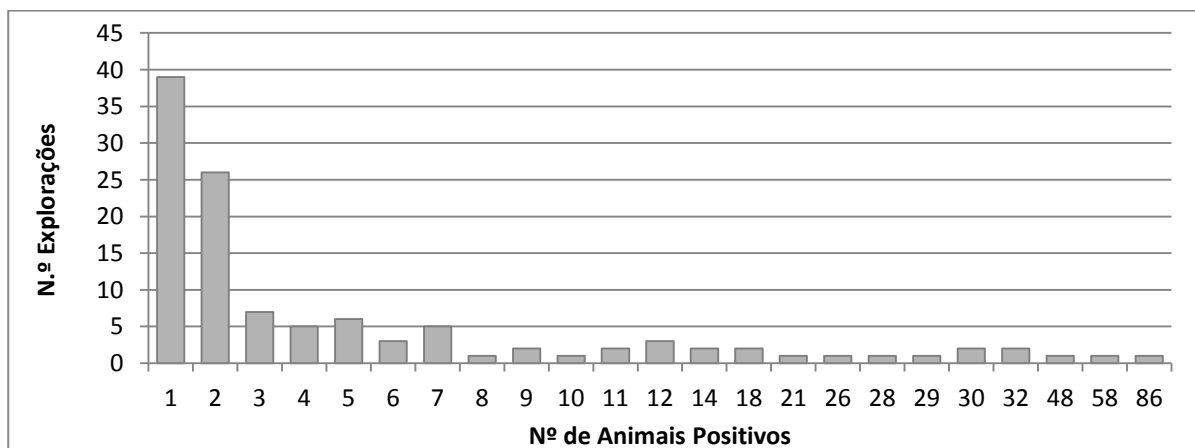
testes de diagnóstico e que por isso rapidamente recuperaram o estatuto sanitário. Oitenta e quatro por cento dos casos de descida de estatuto sanitário correspondem a explorações que adquiriram o estatuto B2.1. Em 27% das explorações não foi possível determinar a evolução da classificação sanitária.



**Gráfico 2.15** Evolução do estatuto sanitário de 109 explorações.

### 2.3.4.3 Prevalência intra-rebanho

Num estudo de todas as explorações sujeitas a IE, foi contado o número de animais positivos em todas as intervenções sanitárias constituindo no rastreio de Brucelose e reinspeção de Brucelose, realizadas em 2009 e 2010. Observou-se que o número de animais positivos na maioria das intervenções foi em geral reduzido, sendo mesmo o mais frequente a detecção de apenas um animal positivo (Gráfico 2.16). A percentagem de rastreios com 1 ou 2 animais positivos foi de 56,5%.



**Gráfico 2.16** Número de animais positivos por intervenção sanitária em 2009 e 2010 nas 138 explorações estudadas.

A Tabela 2.25 mostra a prevalência intra-rebanho, organizada pelo número de ordem da intervenção sanitária. Os dados incluem as explorações com mais de 22 animais (percentil 25), excluindo deste modo prevalências elevadas resultantes de um efectivo de pequeno tamanho. Assim, um animal positivo no mais pequeno rebanho dessa amostra resultará em uma prevalência intra-rebanho de 4,5%.

Como mostrado na tabela, para os anos estudados, independentemente do número de ordem da intervenção (1ª, 2ª, etc.), a prevalência de brucelose intra-rebanho mais frequentemente obtida nos rastreios/reinspecções está compreendida entre 1% e 5%. Observa-se também uma diminuição do número de explorações com elevadas percentagens de animais positivos à medida que são efectuadas as reinspecções.

**Tabela 2.25** Distribuição do número de explorações por prevalência intra-rebanho.

Prevalência Intra-rebanho	Número de Ordem da Intervenção Sanitária														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
0 positivos	0	47	47	46	44	31	26	27	16	12	2	5	1	1	Foco ou falso-positivo
< 0,5%	2	0	2	4	1	3	1	1	0	0	0	0	0	0	
0,5 ≤ x < 1%	15	3	5	4	4	3	4	2	2	1	0	1	0	0	
1 ≤ x < 5%	65	23	24	22	22	18	18	15	9	6	6	2	0	0	
5 ≤ x < 10%	9	10	8	6	7	4	5	4	2	1	2	0	0	0	Foco
10 ≤ x < 50%	18	14	10	7	4	4	5	2	0	2	1	0	0	0	
≥ 50%	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
N.º de Explorações	111	98	96	89	82	63	59	51	29	22	11	8	1	1	

Apenas nas explorações cuja prevalência é superior a 5% se pode ter a certeza de se estar perante uma situação de infecção por brucelose. Quando a prevalência é inferior a 5%, a presença de animais positivos aos testes de diagnóstico no rebanho pode ser resultado de reacções falso-positivas, uma vez que estas proporções podem ser obtidas apenas com um resultado positivo, nos rebanhos pequenos.

### 2.3.5 Análise do saneamento

#### 2.3.5.1 Intervenções

De um modo geral, no conjunto das explorações sujeitas a IE, verificou-se um aumento do número de intervenções de 2009 para 2010, acompanhado de uma diminuição do intervalo entre intervenções. As explorações sujeitas a controlos mais frequentes e com menor intervalo entre intervenções são as que passaram de negativas a positivas e as que permaneceram positivas de um ano para o ano seguinte (Tabela 2.26)

**Tabela 2.26** Intervenções sanitárias nas explorações foco no biénio 2009-2010: número médio de controlos e intervalo médio entre controlos

Ano	N.º médio de controlos por ano			Intervalo médio entre controlos (meses)				
	Total	P→N	P→P	N→P	Total	P→N	P→P	N→P
2009	2,28	1,6	2,6	3,2	3,69	4,2	3,5	3,2
2010	2,79				3,14			

As OPP de um modo geral visitam as explorações para saneamento de acordo com as regras estabelecidas. Tendo em conta que o intervalo entre o teste e o abate dos animais positivos é, para a maioria das explorações menos que 60 dias e respeitando o intervalo entre os rastreios previsto pelo programa de erradicação, as OPP podem fazer cerca de 2 a 3 intervenções por ano. A média calculada para o número de intervenções realizadas por ano para as explorações estudadas foi 2,28 e 2,79 em 2009 e 2010 respectivamente, verificando-se simultaneamente a diminuição do intervalo entre as intervenções nos anos do período de estudo, cujo valor é ligeiramente superior ao estipulado pelo programa de erradicação. Verificou-se ainda que, para as explorações que se tornam positivas de um ano para o outro e nas que se mantiveram positivas, o número de intervenções é maior e o intervalo entre intervenções é menor, comparativamente com as explorações que se mantêm negativas ou que deixam de ser positivas de um ano para o outro, o que está de acordo com o esperado. Pode então concluir-se que as OPP, para as explorações em estudo, cumprem os prazos estipulados pelo programa sanitário, tendência que se tem verificado de um modo geral na DIV a partir de 2009 (A. P. Figueiras, comunicação pessoal, 2011). A análise dos IE permitiu observar a diminuição do número de explorações em que há necessidade de realizar uma reinspecção, o que demonstra que as medidas de controlo previstas pelo programa sanitário estão a ser cumpridas e há uma melhoria da condição sanitária das explorações positivas, em consequência da sua aplicação.

### **2.3.5.2 Vacinação**

Para o estudo da cobertura vacinal das explorações sujeitas a IE, as explorações foram separadas por organização de produtores pecuários (OPP) que efectuou a intervenção sanitária no ano em que o inquérito foi feito.

**Tabela 2.27** Número de explorações que procederam à vacinação dos animais jovens no ano em que o inquérito foi feito e distribuição dessas explorações por OPP a que estão associadas

OPP	N.º de Explorações Vacinadas	N.º de Explorações Não Vacinadas	% de Explorações Vacinadas na OPP
Associação Bons e Valentos	8	3	<b>72,72</b>
Boticas	9	0	<b>100</b>
Chaves	28	3	<b>90,32</b>
Montalegre	13	1	<b>92,86</b>
Tarouca	4	1	<b>80,00</b>
Vila Pouca de Aguiar	54	11	<b>83,08</b>
<b>Total</b>	<b>116</b> <b>85,40%</b>	<b>19</b> <b>15,22%</b>	

Foram excluídos 3 inquéritos realizados em 2009, dado que as explorações não foram alvo de saneamento nesse ano.

Como demonstrado na Tabela 2.27, das 138 explorações sujeitas a IE, 117 (84,78%) afirmaram proceder à vacinação dos animais embora em todas as explorações coexistam animais vacinados e não vacinados, como constatado em consulta do PISA.net e mapas de campo. De uma forma geral, as OPP vacinaram a maioria das explorações estudadas que lhes estão associadas, sendo a OPP Bons e Valentos a que demonstra menor taxa de cobertura das explorações a ela associadas. O concelho de Boticas é o único que apresenta uma taxa de vacinação de 100% para os rebanhos positivos estudados e é simultaneamente um dos que apresenta menor prevalência intra-rebanho (até 1%) nos anos 2009 e 2010, como se observa no mapa da Figura 2.2. Nas saídas de campo, constatou-se que muitos dos produtores decidem não vacinar os animais jovens (apesar de serem notificados, desde 2008, pelos serviços oficiais da obrigatoriedade de vacinação dos jovens sempre que são detectados animais positivos ou identificado qualquer outro factor de risco), defendendo que o seu destino é o abate em matadouro para consumo humano e o intervalo de segurança da vacina (1 mês) impede a venda atempada destes animais. No entanto, verifica-se que os produtores apenas conseguem vender os borregos e cabritos em determinadas alturas do ano, nomeadamente no Natal, Páscoa e por vezes em Agosto, pelo que os animais são mantidos na exploração atingindo os 6 meses de idade, altura pela qual a vacinação já não é permitida.

### **2.3.5.3 Bacteriologia**

A Tabela 2.28 foi construída com base em informações extraídas do PISA.net relativamente ao envio de amostras para análise bacteriológica em laboratório no ano em que a exploração teve animais positivos pela primeira vez. Foram excluídas as explorações crónicas e uma exploração sem registo desta informação.

Observa-se que, em 81,3% destas explorações foco procedeu-se à recolha e envio de amostra, tendo 60,4% destes casos revelado ter animais infectados (isolamento de *Brucella melitensis*). Em 39,6% dos casos, o resultado foi negativo, podendo tratar-se de casos de reacções falso-positivas aos testes de diagnóstico ou falha no isolamento do agente a partir dos animais infectados abatidos.

**Tabela 2.28** Envio de amostras para o laboratório para análise bacteriológica e resultados

Envio de Amostras	N.º de Explorações		Resultado		
Sim	91	81,3%	Positivo	55	60,4%
			Negativo	36	39,6%
Não	21	18,8%	-		
<b>Total</b>	<b>112</b>	<b>100,0%</b>	-		

A mesma tabela revela ainda a existência de explorações em que não houve envio de material para análise bacteriológica (18,8%), o que se pode dever ao facto de a classificação sanitária da exploração ser B2.1 no(s) ano(s) anterior(es), o levantamento dos animais ainda não ter ocorrido ou os resultados da cultura ainda não estarem disponíveis, há suspeita de casos de falsos-positivos ou à falta de registo no PISA.

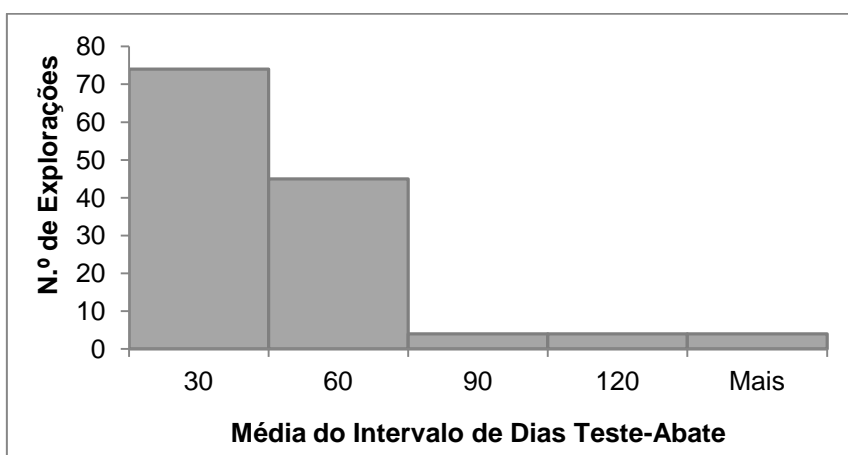
Por outro lado, detecção de casos em que não foi feito o abate sanitário dos animais positivos é consistente com os resultados da análise dos dados oficiais em que se constatou que o número de animais abatidos foi sempre inferior ao número de animais positivos (excepto em 2007, caso em que podem ter sido abatidos animais que foram positivos no ano anterior). As situações em que não é possível concretizar o abate sanitário dos animais positivos podem ser devidas a ocorrência de morte natural, abates clandestinos e trocas comerciais ilegais destes animais antes que possam ter sido recolhidos para abate; a simples falta de registo pode também justificar esta ocorrência. Também se constatou, durante o período de estágio, que as trocas de brincos e o "desaparecimento" de animais ocorrem com alguma frequência.

#### **2.3.5.4 Levantamento e abate dos animais seropositivos detectados na campanha de luta contra a brucelose**

Para as explorações estudadas foram contabilizados 831 animais sujeitos a abate sanitário no ano em que o IE foi realizado, dos quais em 737 foi possível determinar o intervalo de dias entre a obtenção do resultado da análise serológica e o abate do animal positivo (dias teste-abate). Para as explorações estudadas, a média de dias teste-abate foi calculada em 43.74 dias ( $EPM^1=2,60$ ), sendo o menor intervalo detectado 14 dias e o maior 413 dias.

<sup>1</sup> EPM – Erro-padrão da Média

Foi possível determinar a média do intervalo de dias entre o teste e o abate para 131 explorações, verificando-se que na grande maioria das explorações esse intervalo é menor que 60 dias (Gráfico 2.17).



**Gráfico 2.17** Intervalo de dias entre a obtenção do resultado da análise serológica e o abate do animal positivo (dias teste-abate).

No entanto existe uma pequena proporção de explorações (7,6%) em que os animais positivos permanecem na exploração durante um período de tempo prolongado que pode estender-se a mais de 120 dias. Tendo em conta que os produtores inquiridos só sabem que os animais são positivos no momento do seu levantamento para abate sanitário, não é possível proceder à separação antecedente desses animais do resto do rebanho, o que constitui um importante risco para a disseminação da doença. Esta questão foi retirada do modelo n.º 836 da DGV já que em Trás-os-Montes o sistema de recolha de animais caracteriza-se precisamente pela notificação e marcação dos animais a recolher no momento em que estes são levantados de modo a evitar irregularidades por parte dos produtores cometidas no passado, incluindo trocas de brincos (marcas individuais) entre os animais positivos e animais mais débeis ou velhos, notificações falsas de morte ou desaparecimento dos animais e venda precipitada dos mesmos a outros produtores.

### **2.3.6 Aspectos da Saúde Pública**

#### **2.3.6.1 Auto-consumo**

Quando inquiridos sobre o consumo dos produtos produzidos na exploração, nenhum produtor afirmou beber leite (Tabela 2.29). Treze produtores responderam que fabricam queijo e o consomem: 3 consomem queijo fresco, dos quais apenas 1 afirmou ferver o leite antes de fazer o queijo. Um produtor afirmou consumir queijo curado. Quarenta e seis dos produtores consomem borregos/cabritos provenientes das próprias explorações.

**Tabela 2.29** Auto-consumo de leite, queijo e borregos ou cabritos.

Auto-consumo	N.º de Explorações		Sem dados
	Sim	Não	
Leite	0	108	30
Queijo	13	95	30
Borregos/Cabritos	46	5	87

### 2.3.6.2 Venda de produtos de origem animal

A maioria dos produtores vende borregos ou cabritos (Tabela 2.30). Alguns produtores vendem outros produtos, nomeadamente vitelos (9 produtores); em quatro IE não estava especificado qual o produto vendido. Apenas um produtor vende leite e procede à sua refrigeração. No entanto não havia resposta relativa ao sistema de ordenha utilizado (Tabela 2.30).

**Tabela 2.30** Venda de produtos de origem animal.

Produto	N.º de Explorações	%
Leite	1	0,9
↳ (Refrigeração)	1	0,9
Queijo	4	3,5
↳ Queijo Curado	2	1,8
↳ Queijo Fresco	1	0,9
↳ Ambos	1	0,9
Borregos/Cabritos	94	82,5
Outros	15	13,2
↳ Cabras	1	0,9
↳ Estrume	1	0,9
↳ Vitelos	9	7,9
↳ Não especificado	4	3,5

Apesar de a maioria (65) não ter especificado a quem vende os animais jovens, 14 produtores afirmaram que os vendem a particulares e 3 que os vendem a negociantes; um produtor admitiu vender directamente a um talho, não especificando se o animal foi abatido em matadouro (Tabela 2.31).

**Tabela 2.31** Destino dos borregos e cabritos vendidos.

<b>Destino dos Borregos/Cabritos</b>	<b>N.º de Explorações</b>
Matadouro	15
↳ Apenas Matadouro	12
↳ Matadouro e Negociante	2
↳ Matadouro e Talho	1
Particular	12
↳ Apenas Particular	11
↳ Particular e Negociante	1
Particular e Matadouro	2
Não especificado	65
<b>Total produtores que vendem borregos/cabritos</b>	<b>94</b>

### 2.3.7 Irregularidades no cumprimento do Programa de Erradicação da Brucelose

Oito das explorações sujeitas a IE apresentaram irregularidades, descritas na Tabela 2.32, de acordo com o registo efectuado pelo MV oficial:

**Tabela 2.32** Irregularidades ao PEB.

<b>Descrição das Irregularidades Encontradas no IE analisados</b>	<b>N.º de IE</b>
Compra/venda de animais sem documentação	2
Compra/venda de animais sem documentação; Impedimento ao carregamento de animal seropositivo para abate	1
Compra/venda de animais sem documentação; Animais saneados não registados como pertencentes à exploração*	1
Animais saneados não registados como pertencentes à exploração	1
Abate de adulto para consumo	1
<b>Total</b>	<b>8</b>

\*Animais identificados como pertencentes a outra exploração.

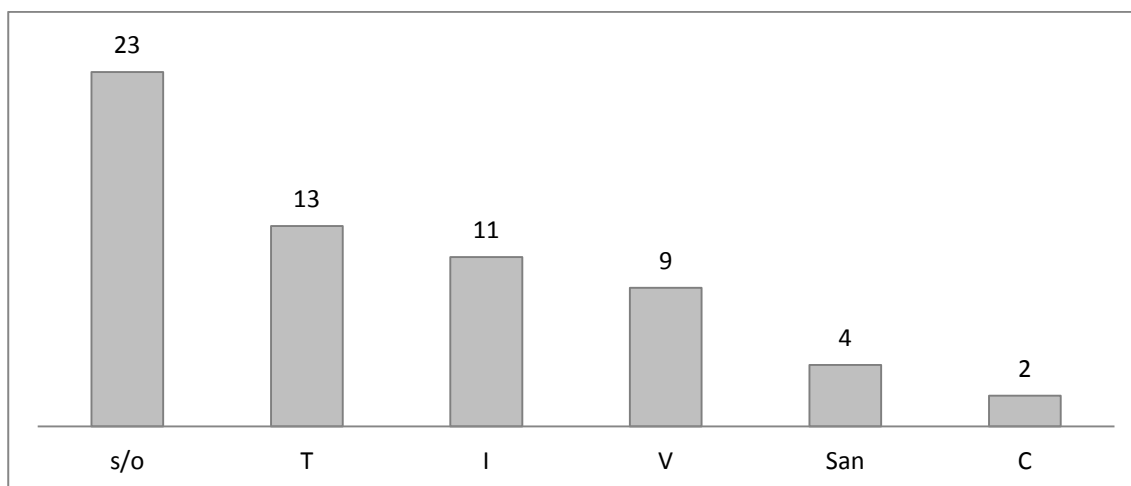
As irregularidades registadas prendem-se fundamentalmente com problemas na identificação animal, no não cumprimento das regras de trânsito animal e com situações de não cumprimento do Programa de Erradicação.

### 2.3.8 Origem da infecção

#### 2.3.8.1 Opinião do proprietário quanto à origem da infecção

Numa análise dos 58 do IE Modelo n.º 836 da DGV e um IE realizado em 2009 e actualizado pelo novo modelo (n=59), verificou-se que maior parte dos produtores mostrou não ter opinião sobre qual a origem da infecção na sua exploração; em dois IE está mesmo patente o desinteresse geral dos proprietários sobre a doença, que afirmam que “sempre houve brucelose” na sua exploração.

Os produtores consideram que a introdução de animais, a partilha de pastos/mistura de animais e a vizinhança são os principais factores de risco relacionados com a origem da doença (Gráfico 2.18). Quatro produtores afirmaram que a seropositividade dos seus animais se deveu a saneamentos incorrectos (por exemplo, colheita de sangue de animais vacinados há menos de 12 meses), não tendo esta informação sido confirmada por análise dos dados do PISA. Foram excluídos 5 inquéritos sem resposta a esta questão.

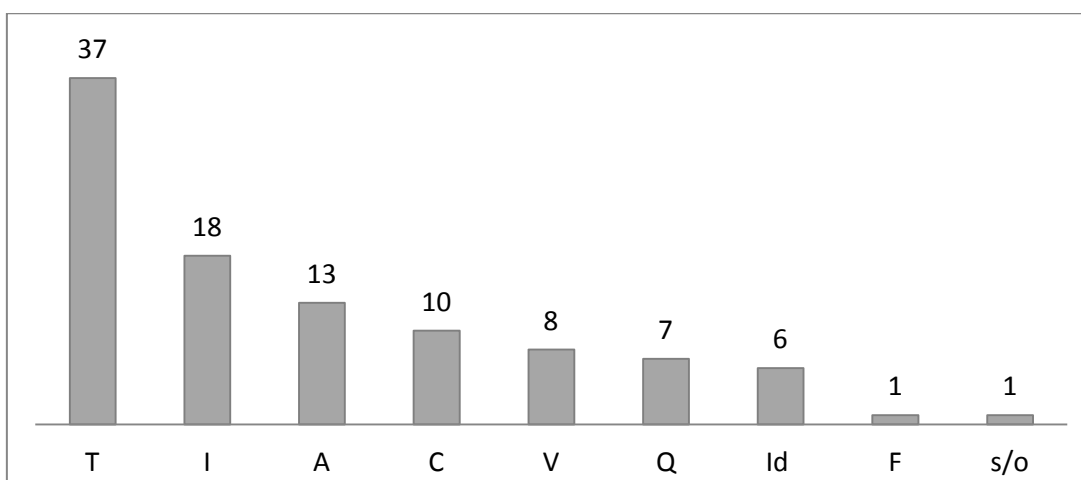


**Gráfico 2.18** Contagem do número de causas possíveis para a introdução de Brucelose na exploração segundo a opinião dos proprietários das explorações sujeitas a IE.

s/o – sem opinião, T – transumância mistura de animais, pastos comuns, I – introdução de animais, V – vizinhança, San – saneamento incorrecto, C – partilha caminhos.

#### 2.3.8.2 Opinião do MV quanto à origem da infecção

Foi possível retirar informação sobre a opinião do MV quanto à origem da infecção dos 58 IE do Modelo n.º 836 da DGV e de 13 IE realizados em 2009 e actualizados pelo novo modelo (n=71).



**Gráfico 2.19** Contagem do número de causas possíveis para a introdução de Brucelose nas explorações sujeitas a IE, segundo a opinião do Médico Veterinário que realizou o inquérito.

T – transumância, mistura de animais, pastos comuns, I – introdução de animais, A – animais silvestres, C – partilha caminhos, V – vizinhança, Q – troca de animais (incluindo troca de reprodutores), Id – troca de identificação, F – fómites, s/o – sem opinião.

Para a maioria das explorações, o MV é da opinião de que a partilha de pastos/mistura de animais, a introdução de animais no rebanho e o contacto com animais silváticos são os principais factores responsáveis pela origem da infecção na exploração (Gráfico 2.19). A partilha de caminhos, a vizinhança e troca de animais também são factores frequentemente considerados como responsáveis. Os factores apontados foram identificados por outros autores como Matope (2011) e Megersa (2011). Os dois primeiros factores (T e I) são comuns com os considerados importantes pelos produtores que emitiram opinião.

Em seis explorações, a incorrecta identificação dos animais foi considerado um factor de risco na origem da doença. Apenas um Médico Veterinário considerou que fómites estiveram na origem da doença. Em um dos inquéritos foi registada a impossibilidade de identificação da origem da doença. Foi excluído um inquérito sem resposta a esta questão.

Para a maioria das explorações (47%), o Médico Veterinário considerou que havia 2 ou 3 factores possivelmente responsáveis pela origem da infecção. Em 40% dos IE, o Médico Veterinário considerou apenas um factor (Tabela 2.33).

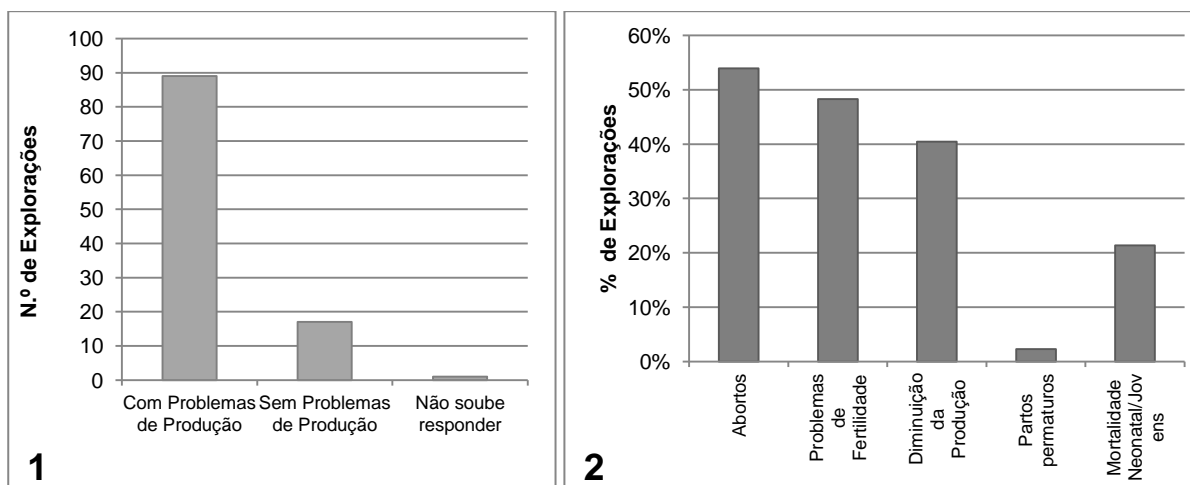
**Tabela 2.33** Número de factores considerados como causa de introdução de Brucelose nas explorações segundo a opinião do Médico Veterinário que realizou o inquérito.

N.º de Factores Considerados	N.º de Explorações	%
Apenas um factor	28	40
2 a 3 factores	33	47
4 ou mais factores	9	13
<b>Total</b>	<b>70</b>	<b>100</b>
<i>Sem dados</i>	1	-

### 2.3.9 Consequências dos focos

Quando inquiridos sobre sinais clínicos presentes nos rebanhos (Gráfico 2.20). O Painel 1 mostra o número de explorações em que o produtor considerou haver problemas de produção; foram excluídos 31 respostas em branco. O Painel 2 discrimina a percentagem de explorações em que foram detectados cada tipo de problema produtivo.

Oitenta e nove produtores responderam ter problemas de produção, nomeadamente abortos, problemas de fertilidade e diminuição da produção de leite ou carne.



**Gráfico 2.20** Alterações produtivas nas explorações infectadas com Brucelose.

As alterações produtivas sentidas pelos produtores, dentro das possibilidades associadas à presença da brucelose e constantes do inquérito permitem revelar que o aborto é sentido em mais de metade das explorações-foco como um problema para os produtores.

## 2.4 Análise geral da presença de Factores de Risco conhecidos

As Tabelas 2.34 e 3.35 descrevem a frequência de ocorrência dos factores de risco e dos factores de protecção investigados pelos IE.

Os factores de risco que contribuem para a introdução, manutenção ou disseminação da brucelose que mais frequentemente foram indicados nos IE foram: a ocorrência de abortos nos pastos e consequente contaminação dos mesmos (87,5%), consumo de água cuja fonte não é a rede pública (83,6%), o contacto com explorações vizinhas (79,7%), a utilização de estrumes como biofertilizante (79,3%), a presença de cães pastores (77,5%), o facto de ter explorações vizinhas com estatuto sanitário inferior a B3 (71,0%), a partilha de pastos e/ou caminhos com outros rebanhos (67,4%) e o contacto com animais silváticos (65,5%).

A introdução de novos animais com origem em explorações cujo estatuto sanitário era inferior a B3 no efectivo foi um factor de risco indicado em apenas 5,8% dos casos.

Os factores de protecção mais frequentemente indicados nos IE foram a vacinação do efectivo (84,8%), a existência de uma só espécie animal no rebanho (76,1%) e a utilização de comedouros (67,5%).

Neste trabalho tentou ainda compreender-se quais os factores de risco mais frequentes para cada tipo de caso de infecção dos rebanhos (novo, recorrente ou crónico) (Gráfico 2.21). Os factores de risco mais frequentes relacionados com a introdução de brucelose nos rebanhos foram a presença de vizinhança com estatuto inferior a B3 (G) e a partilha de pastos e caminhos com outros rebanhos (B), com uma frequência superior a 30% em todos os tipos de caso. Nos casos crónicos, também o contacto com animais silváticos foi identificado em mais de 30% dos casos, embora, como já referido anteriormente, a sua importância epidemiológica seja reduzida. Relativamente aos factores de risco relacionados com a manutenção e disseminação da doença nos rebanhos, nos casos novos e recorrentes os factores mais frequentes (>30%) são a contaminação dos pastos pelos partos (O) e a presença de cães pastores (K); nos casos crónicos o factor mais frequente é a utilização de estrumes como biofertilizante.

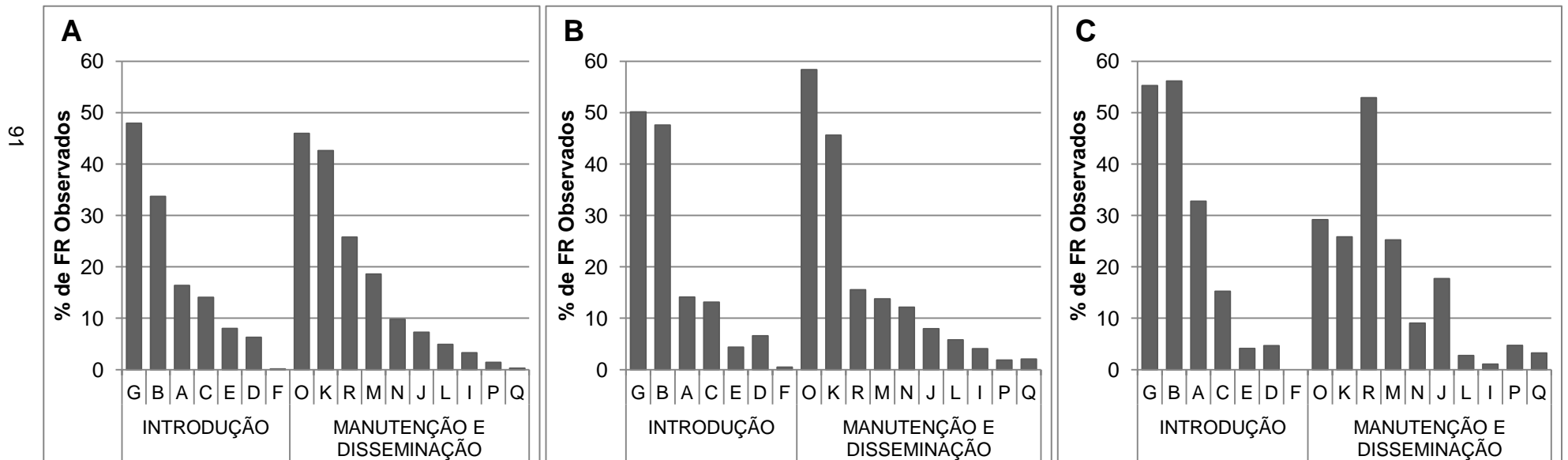
A presença de doença nas explorações estudadas está relacionada com factores de risco que revelam falta de aplicação de medidas de higiene e biossegurança por parte dos produtores, nomeadamente no que diz respeito ao contacto com animais potencialmente infectados e exposição ambiental a *Brucella*. O contacto de risco com outros animais averiguado neste trabalho deu-se principalmente através da presença de vizinhos com estatuto inferior a B3 e contacto com outros rebanhos nos pastos e nos caminhos (cuja identificação não foi possível através dos IE). Os pastos contaminados por produtos do aborto e a presença de cães com acesso às secundinas (contribuindo para a disseminação da doença nos pastos e nas explorações) são os factores que mais contribuem para a contaminação ambiental e exposição ao agente. A utilização de estrumes como biofertilizante parece ser o factor com maior peso na manutenção da doença nas explorações crónicas e contribui para a contaminação ambiental. Estes achados são consistentes com as percentagens relativamente baixas de frequência adequada de limpeza, desinfecção, desinsectização e desratização e estão de acordo com os resultados publicados por Coelho (2007).

**Tabela 2.34** Frequência de ocorrência dos factores de risco identificados através da análise dos IE.

	Designação	Número de IE	N.º de Explorações	%	
Factores de Risco de Introdução da doença que constam do inquérito	A. Contacto com animais silváticos	58	38	65,5%	
	B. Partilha de pastos e/ou caminhos com outros rebanhos	138	93	67,40%	
	C. Efectivo com animais não vacinados	138	21	15,2%	
	D. Consumo de água potencialmente contaminada	80	67	83,8%	
	E. Compra ou troca de reprodutores	138	34	24,6%	
	F. Introdução de animais potencialmente infectados	138	8	5,8%	
	G. Vizinhança estatuto inferior a B3	138	98	71,0%	
Factores de Risco para a Manutenção e Disseminação da Doença dentro da Exploração que constam do inquérito	H. Sem separação dos animais infectados	138	138	100,0%	
	I. Presença de Bovinos nos últimos 5 anos	138	26	18,8%	
	J. Consumo de secundinas pelos cães	138	40	29,0%	
	K. Presença de Cães Pastores	80	62	77,5%	
	L. Sem isolamento das fêmeas gestantes	138	34	24,6%	
	M. Intervalo entre teste e abate superior a 30 dias	138	57	40,3%	
	N. Partos sem sazonalidade	138	45	32,6%	
	Contaminação do meio ambiente	O. Através de partos ocorridos nos pastos	80	70	87,5%
		P. Através da não destruição dos produtos do parto/aborto	58	13	22,4%
		Q. Rebanho com mais de 150 animais	138	16	11,2%
	R. Utilização de estrumes como biofertilizante	58	46	79,3%	
Factores de Risco para a Disseminação da Doença a outras Explorações	S. Saída de animais potencialmente infectados	138	9	6,5%	
	T. Explorações com contacto com a vizinhança	138	110	79,7%	

**Tabela 2.35** Frequência de ocorrência dos factores de protecção identificados através da análise dos IE.

	Designação	Número de IE	N.º de Explorações	%
Factores de Protecção	Aplicação de vacinação no efectivo	138	117	84,8%
	Utilização de comedouros	80	54	67,5%
	Frequência de Limpeza&Desinfecção das instalações superior a 6x/ano	138	52	37,7%
	Frequência de Desinsectização das instalações superior a 6x/ano	80	12	15,0%
	Frequência de Desratização das instalações superior a 6x/ano	80	20	25,0%
	Constituição do rebanho por uma só espécie	138	105	76,1%



**Gráfico 2.21** Distribuição da ocorrência dos factores de risco (FR) de acordo com a classificação de caso positivo (percentagem da ocorrência dos FR nos 138 IE e por tipo de caso): Painel A – Casos Novos, Painel B – Casos Recorrentes e Painel C – Casos Crónicos. Legenda na Tabela 3.34

### 2.4.1.1 Saúde do agregado familiar e assalariados

A Tabela 2.36 mostra a frequência de registo de actividades de risco para a saúde pública nos IE. A venda de borregos e/ou cabritos, o seu consumo directo pelos produtores e a assistência nos partos foram as actividades de risco mais frequentemente encontradas nos IE.

**Tabela 2.36** Frequência de ocorrência de actividades de risco para a saúde pública identificados através da análise dos IE.

	Designação	Número de IE	N.º de Explorações	%
Factores de Risco para Humanos	Assistência aos partos	58	32	55,2
	Ordenha manual	80	8	10,0
	Consumo de leite	138	0	0,0
	Consumo de queijo	138	13	9,4
	Venda de leite	138	1	0,7
	Venda de queijo curado	138	3	2,2
	Venda de queijo fresco	138	2	1,5

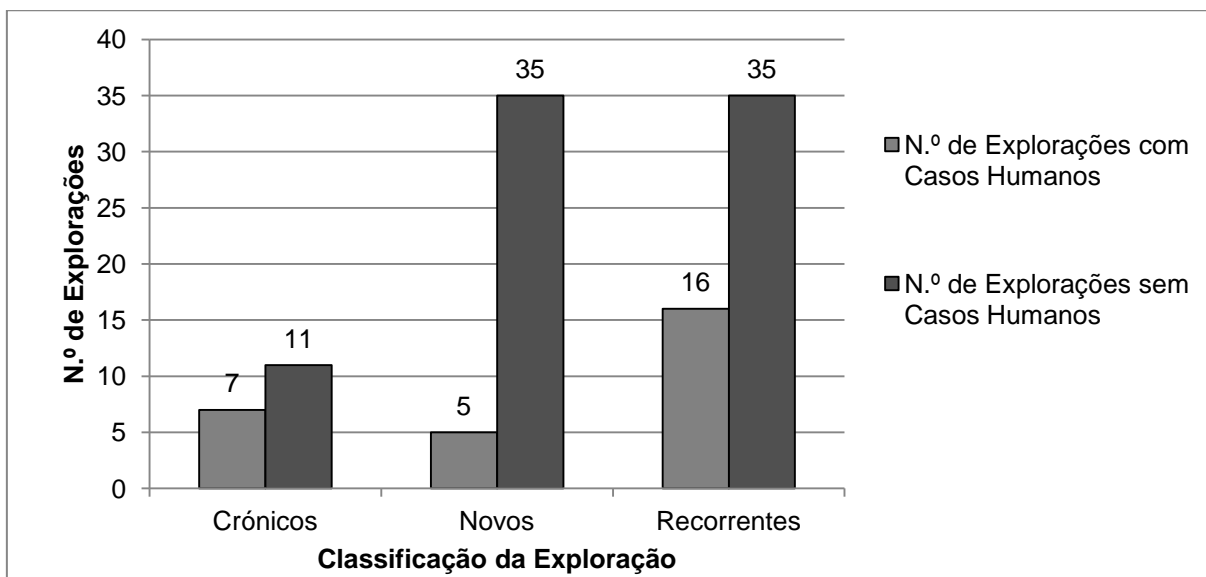
Trinta e quatro produtores responderam que houve casos de Brucelose na família (27%). Tratava-se, na maioria, de explorações que se mantiveram positivas de um ano para o ano seguinte ou que se tornaram positivas no ano em que o inquérito foi realizado (Tabela 2.37). Estes casos baseiam-se em informação do produtor e não correspondem a diagnóstico/confirmação médica.

**Tabela 2.37** Número de explorações em que houve casos humanos.

Evolução Sanitária	Explorações com Casos de Brucelose em Humanos	N.º de Explorações	%
P→N	4	19	21,1
P→P	15	47	31,9
N→P	14	68	20,6
<b>Total</b>	<b>34</b>	<b>134</b>	<b>25,8</b>

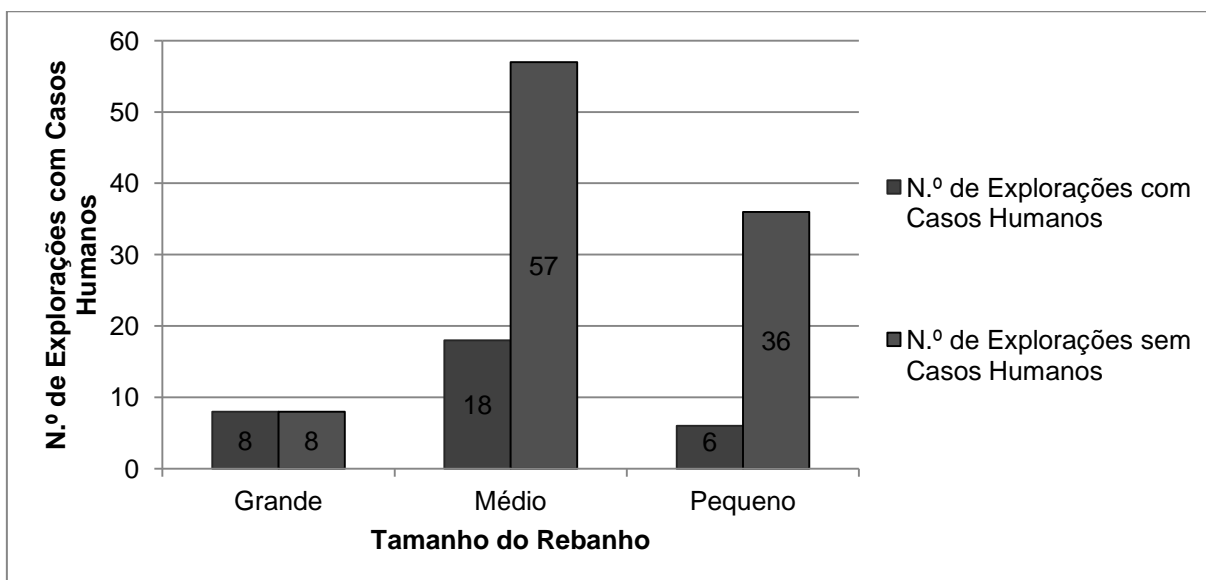
Os resultados estão apresentados de acordo com a evolução sanitária no ano em que o IE foi realizado.

Os Gráficos 2.22 e 2.23 mostram que os factores “cronicidade de positividade na exploração” e “tamanho médio do rebanho” são os mais frequentemente associados às explorações onde ocorreram casos humanos.



**Gráfico 2.22** Distribuição das explorações onde ocorreram casos humanos de brucelose por classificação quanto à evolução da positividade dos rebanhos.

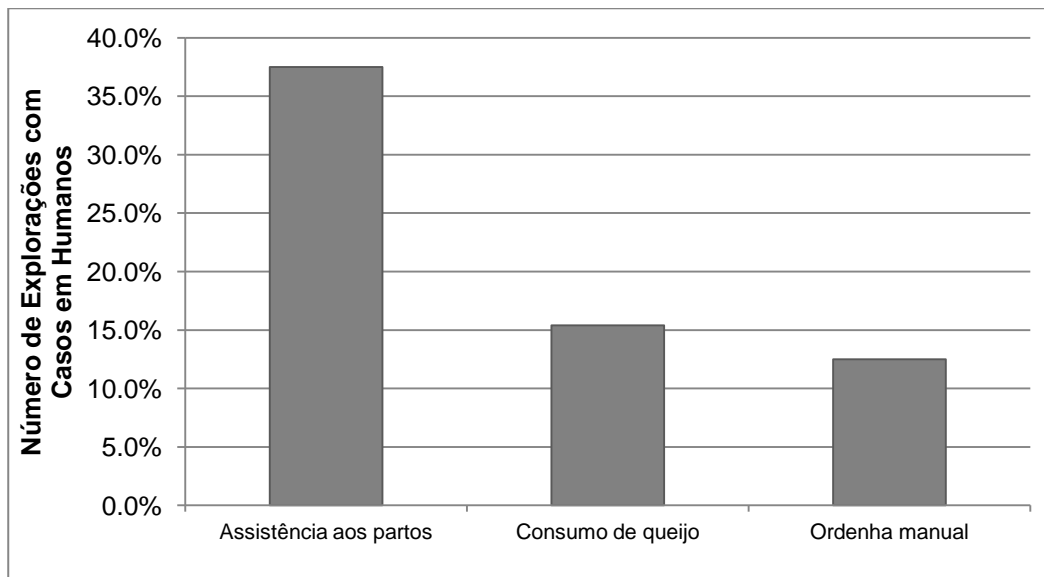
A percentagem de explorações com casos humanos é inferior à percentagem de explorações em que não ocorreram casos humanos para os três tipos de exploração, podendo observar-se que a maior proporção de casos humanos ocorre nas explorações crónicas.



**Gráfico 2.23** Distribuição das explorações onde ocorreram casos humanos de brucelose por classificação quanto ao tamanho dos rebanhos.

A percentagem de explorações com casos humanos é inferior à percentagem de explorações em que não ocorreram casos humanos no caso das explorações de dimensão média e pequena. Nas explorações de grande dimensão os casos humanos ocorrem em 50% das explorações estudadas.

No Gráfico 2.24 é possível verificar que para a maioria dos casos humanos registados nos IE, os comportamentos de risco mais frequentes foram o consumo de borregos e cabritos e a assistência aos partos.



**Gráfico 2.24** Relação entre os casos humanos identificados nos IE e actividades de risco praticadas pelos produtores.

O principal comportamento de risco para os produtores identificado pela análise dos IE foi a assistência aos partos. Com efeito a exposição humana é maior no momento do parto, altura em que a excreção de *Brucella* é máxima. Apesar do principal método de ordenha ser manual, esta não é uma actividade comum na região de Trás-os-Montes. Ainda assim foi identificada uma exploração em que se realizava ordenha manual e ocorreu brucelose em humanos, pelo que este factor de risco não deve ser menosprezado. O consumo de leite não é um costume entre os produtores inquiridos, mas o fabrico de queijo é uma prática mais comum, chegando a ser um produto comercializado a terceiros. Em duas das explorações estudadas foi possível identificar a co-ocorrência do consumo de queijo fresco e de casos de brucelose em humanos. O maior perigo da produção de queijo está na venda a terceiros, especialmente porque a fervura do leite antes do fabrico artesanal do queijo é considerado pelos produtores como um processo desvalorizador do produto (o rendimento do leite é menor e a qualidade organoléptica do queijo é inferior).

Seria importante a valorização dos produtos tradicionais, como o queijo, através do desenvolvimento de sistemas de comercialização e marketing de forma a permitir aos produtores a adopção de tecnologia adequada (como a ordenha mecânica) no fabrico desses produtos, garantido a sua qualidade e segurança.

### 3 Conclusões

A região administrativa da DIV de Vila Real constitui uma zona problemática do país relativamente à brucelose, onde as condições de manejo dos animais, as adversidades geoclimáticas da região e a situação sócio-económica de alguns produtores em muito contribuem para o difícil controlo da doença. Apesar disso, a prevalência de brucelose tem sofrido uma diminuição sistemática, embora lenta, de ano para ano, com excepção de um aumento não significativo em 2010. No entanto, em cinco anos não se conseguiu diminuir a prevalência para um valor menor que 1,5%, como previsto no Plano de Controlo e Erradicação Especial para Trás-os-Montes, pelo que apesar da prestação de todos os intervenientes no programa sanitário, os esforços são ainda insuficientes e devem ser reforçados, tanto a nível dos produtores, das OPP como da DIV.

A cobertura do rastreio anual na DSVRN foi relativamente baixa em 2009, tendo sido ainda inferior em 2010. Seria importante realizar uma avaliação fidedigna deste indicador para a DIV de Vila Real, tendo em conta os problemas encontrados de adesão dos produtores às OPP. Em situações de elevada prevalência, a capacidade de abranger a totalidade da população é muito importante.

Foi constatada uma boa taxa de vacinação em explorações da DIV, de acordo com o preconizado no plano, mas resultando numa baixa cobertura vacinal global dos rebanhos, em território que regista acima dos 10% de explorações positivas. Nem os IE nem os relatórios técnicos permitem compreender a verdadeira taxa de cobertura vacinal intra-rebanho. Para saber o número de animais vacinados numa exploração é necessário aceder ao registo individual de cada exploração e averiguar se cada animal está ou não vacinado. Teria todo o interesse facilitar esta interface do PISA.net de modo a facilmente compreender se existem explorações onde a taxa de cobertura vacinal é alta ou baixa, adequando o número de visitas e a pressão sanitária nas explorações problemáticas. Tendo em conta que a vacinação dos jovens é um dos pilares do programa de erradicação (DGV, 2010a), e dado o crescimento do indicador incidência na DIV Vila Real, poder-se-ia questionar a adopção de uma estratégia vacinal baseada na área e não no estatuto de rebanho. Parece ser necessária a vacinação, não só nas explorações de estatuto sanitário não-indemne mas também naquelas em que se averigua haver contacto com animais potencialmente infectados (quer através da vizinhança quer durante o pastoreio comunal). Seria tecnicamente aconselhável que a taxa de vacinação das explorações seja de pelo menos 80% em todos os concelhos em que os serviços veterinários determinassem risco de disseminação de brucelose de modo a tornar o programa de controlo mais eficiente e a acelerar a erradicação com um menor custo.

Esperava-se encontrar um IE por cada nova exploração positiva; em 2009 houve uma boa taxa de realização com 97,9% dos focos investigados mas em 2010 mais de metade dos novos focos permaneceram não investigados. A disponibilidade de pessoal nos serviços veterinários torna a realização de IE a todos os focos de brucelose uma tarefa de difícil concretização. A maioria dos IE realizados investiga casos recorrentes ou novos casos, correspondendo maioritariamente a explorações que mantiveram ou desceram o seu estatuto sanitário em 2009 ou 2010. A realização de 37 actualizações de IE não identificou novos factores de risco que tivessem contribuído para a manutenção da doença nas explorações em estudo, sendo a quase totalidade das actualizações feitas relativamente a dados disponíveis no PISA. A nova visita a uma exploração já sujeita a IE torna o estudo da doença na DIV ineficiente, especialmente tendo em conta que mais de metade dos focos de brucelose permaneceram sem ser investigados em 2010. Algumas dificuldades encontradas na análise de dados foram a existência de IE com preenchimento muitas vezes parcial. Esta circunstância pode ser resultado da falta de tempo para a realização de uma verdadeira investigação ao nível da exploração, da reticência de certos produtores em colaborar, entre outros. Seria um importante contributo para acelerar a erradicação dos focos que a sua investigação fosse tão profunda quanto necessária para a determinação e correcção de práticas que constituem risco de introdução da doença. O estabelecimento de um diálogo com o produtor de cariz educativo deve ser prioritário com vista ao estabelecimento de uma relação de confiança entre os serviços e os produtores e entre as OPP e os produtores, que leve a que estes compreendam a importância da doença para a saúde animal e pública e o seu próprio papel no controlo e erradicação da mesma.

A análise da informação dos IE demonstrou que as características de exploração de pequenos ruminantes na área estudada são as referidas por outros autores (Gonçalves, 1997; Coelho, 2007; DGV, 2010a) para Trás-os-Montes: regime extensivo com recurso a pastoreio comum e mistura de rebanhos de vários proprietários, sendo este tipo de produção característico da região de Trás-os-Montes (DGV, 2010a) e a falta de sazonalidade da época de partos que se estende por todas as estações do ano. Pela análise dos IE foi possível determinar que a maioria das explorações estudadas tem vizinhos havendo por isso a possibilidade de haver disseminação da doença para essas explorações. Na realização dos IE, é importante que o Médico Veterinário faça todos os esforços possíveis para identificar as explorações vizinhas e outras explorações com que a exploração em estudo mantenha contacto, já que é fundamental compreender se essas explorações são a origem da infecção ou se, estando livres de brucelose, devem reforçar as medidas de biossegurança. A gestão sanitária das áreas de pastagem pelos próprios produtores deve ser também incentivada de modo a evitar a mistura de rebanhos infectados e saudáveis e da exposição de rebanhos saudáveis a pastos contaminados.

Os factores de risco conhecidos mais frequentes nas explorações estudadas foram a presença de explorações vizinhas com estatuto inferior a B3, a partilha de pastos e caminhos, a contaminação do meio ambiente através dos partos, a presença de cães pastores, a utilização dos estrumes como biofertilizante, o consumo de água potencialmente contaminada e o contacto com explorações vizinhas. A análise dos IE permitiu apurar que a maioria dos rebanhos estudados apresenta contacto com outros animais a nível dos pastos e caminhos, não apresenta sazonalidade da época dos partos (ocorrendo partos ao longo do ano) e que os partos ocorrem na maioria das vezes nas pastagens. Adicionalmente, uma proporção importante dos produtores recorre a troca ou compra de animais reprodutores (25%) e não procede ao isolamento das fêmeas no período peri-parto (26%). Em 27% das explorações estudadas os produtores responderam ter havido casos de brucelose na família e o factor de risco para humanos mais frequentemente registado foi a assistência aos partos, sendo também importante referir que cerca de metade dos produtores que realizam ordenha dos animais fazem-na manualmente. Estas situações constituem factores de risco documentados (Vaz & Ellis, 1997; Corbel, 2006; Nicoletti, 2010; e Matope, 2011). Uma investigação mais pormenorizada sobre a origem da água fornecida aos animais também é importante (questão suprimida nos IE do novo modelo), já que a administração de água da rede pública a nível privado, dentro da exploração, tem um impacto diferente de uma administração da mesma a nível comunitário (fontes e fontanários).

O sucesso na erradicação da brucelose dos pequenos ruminantes é, pela presença forte de factores de risco conhecidos sobretudo uma responsabilidade dos produtores, através da colaboração com o programa oficial, especialmente a nível do estrito controlo da introdução de animais, da implementação de medidas de higiene e biossegurança e do cumprimento de acções e prazos, aliás estipulados legalmente. Todos os esforços no sentido do controlo da doença e prevenção da sua transmissão a humanos é extremamente difícil se não existe uma consciencialização, através da educação, das pessoas directamente relacionadas com os animais e/ou a produção de alimentos e do em público geral enquanto consumidor. Esta colaboração só será possível se houver uma compreensão, por parte destes intervenientes, da importância da erradicação da brucelose, não só a nível económico como a nível da saúde pública. Devem ser mantidas e até intensificadas as campanhas de sensibilização; as visitas das OPP às explorações devem ter também um carácter educativo. O público em geral deve ser alertado e educado relativamente a esta doença com um forte impacto zoonótico e económico. Foi aliás possível, através da análise dos IE, determinar perdas produtivas específicas nas explorações.

De um modo geral, a análise dos inquéritos e dos registos do PISA.net demonstra que as OPP cumprem o programa sanitário. Resultado do acompanhamento feito a brigadas de uma OPP, verificou-se que algumas medidas de biossegurança poderiam ser melhoradas,

nomeadamente a limpeza e desinfectação das botas depois de todas as intervenções sanitárias e antes de entrar numa nova exploração ou numa residência doméstica, uso de avental durante a manipulação de animais potencialmente infectados, uso de viseira durante a administração da vacina, a utilização correcta dos pedilúvios e rodolúvios. A presença sistemática de um Médico Veterinário nas brigadas decerto contribuiria para o cumprimento de todos estes aspectos e seria uma mais-valia no que diz respeito ao diálogo com os produtores na importante vertente de educação para a saúde sensibilizando o produtor para a importância da biossegurança e da protecção pessoal.

Existem alguns aspectos técnicos que poderiam ser melhorados em relação ao sistema informativo de apoio ao plano na área administrativa da DIV de Vila Real. Durante o estudo foi detectado um erro de repetição de explorações a nível da base de dados no PISA, resultado da criação de uma nova OPP em 2010; a correcção desta base de dados é absolutamente fundamental para o cálculo da verdadeira prevalência da doença em 2010 e para, nos anos subsequentes, manter o historial da exploração. Alguns aspectos não determinados neste trabalho, quer por dificuldade de acesso aos dados quer por limites de tempo, poderiam ter fornecido informações úteis para a avaliação global da epidemiologia da doença e da implementação do programa de erradicação, nomeadamente o cálculo do intervalo entre abate e reinspecção, a determinação da diferença da prevalência entre rebanhos grandes, médios e pequenos e a determinação dos indicadores “regime de produção” e “aptidão zootécnica” para o efectivo global da DIV para comparação com as explorações foco, por exemplo.

Os sistemas de informação geográfica têm enorme uma contribuição no estudo epidemiológico das doenças. Neste trabalho, a sua utilização foi muito rudimentar e um estudo mais aprofundado poderia identificar factores geográficos que contribuam para a epidemiologia da doença nesta região tão particular. A título de exemplo, teria interesse investigar se casos de explorações isoladas que positivaram se devem a acesso a rios ou riachos eventualmente contaminados a montante.

A avaliação epidemiológica sistemática não só dos focos mas também da situação em geral constitui uma importante ferramenta de avaliação do sucesso das várias medidas que compõem um plano. Os resultados deveriam ser apresentados aos vários actores e debatidos de forma regular para se identificar as oportunidades de melhoria que levariam a uma mais rápida e eficaz erradicação da brucelose dos pequenos ruminantes na DIV de Vila Real.

Por fim, é importante salientar que um bom sistema de vigilância requer a colaboração e troca de informação entre os sectores veterinário e de saúde pública. A partilha de informação permitiria uma melhor compreensão da dinâmica zoonótica da brucelose, a detecção precoce de casos humanos e em animais e a aplicação de medidas preventivas. Neste sentido, desde 2009 tem sido feito um esforço por parte da DIV, através da comunicação sistemática da detecção de animais positivos e de casos de isolamento do agente às autoridades de saúde, ponto a acrescentar à difícil tarefa de defesa da saúde pública.

## Bibliografia

1. Al-Khalaf, S. A. S., Mohamad, B. T. & Nicoletti, P. (1992). Control of brucellosis in Kuwait by vaccination of cattle, sheep and goats with *Brucella abortus* strain 19 or *Brucella melitensis* strain Rev. 1 *Tropical Animal Health and Production* 24 (1), 45-49.
2. Almuneef, M., Memish, Z., Balkhy, H., Alotaibi, B., Algoda, S., Abbas, M. & Alsubaie, S. (2004). Importance of screening household members of acute brucellosis cases in endemic areas. *Epidemiology and Infection*, 132 (3), 533-540.
3. Ariza, J., Bosilkovski, M., Cascio, A., Colmenero, J. D., Corbel, M. J., Falagas, M. E., Memish, Z. A., Roushan, M. R. H., Rubinstein, E., Sipsas, N. V., Solera, J., Young, E. J. & Pappas, G. (2007). Perspectives for the Treatment of Brucellosis in the 21st Century: The Ioannina Recommendations. *PLoS Med*, 4 (12), e317.
4. Ariza, J., Pigrau, C., Cañas, C., Marrón, A., Martínez, F., Almirante, B., Corredoira, J. M., Casanova, A., Fabregat, J. & Pahissa, A. (2001). Current Understanding and Management of Chronic Hepatosplenic Suppurative Brucellosis. *Clinical Infectious Diseases*, 32 (7), 1024-1033.
5. Awad, R. (1998). Human brucellosis in the Gaza Strip, Palestine. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 4 (2), 225-233.
6. Banai, M. (2002). Control of small ruminant brucellosis by use of *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine: laboratory aspects and field observations. *Veterinary Microbiology*, 90 (1-4), 497-519.
7. Baron, E. J. & Miller, J. M. (2008). Bacterial and fungal infections among diagnostic laboratory workers: evaluating the risks. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 60 (3), 241-246.
8. Barrio, M. B., Grilló, M. J., Muñoz, P. M., Jacques, I., González, D., de Miguel, M. J., Marín, C. M., Barberán, M., Letesson, J.-J., Gorvel, J.-P., Moriyón, I., Blasco, J. M. & Zygmunt, M. S. (2009). Rough mutants defective in core and O-polysaccharide synthesis and export induce antibodies reacting in an indirect ELISA with smooth lipopolysaccharide and are less effective than Rev 1 vaccine against *Brucella melitensis* infection of sheep. *Vaccine*, 27 (11), 1741-1749.
9. Blasco, J. M. (1997). A review of the use of *B. melitensis* Rev 1 vaccine in adult sheep and goats. *Preventive Veterinary Medicine*, 31 (3-4), 275-283.
10. Blasco, J. M. (2010). Control and eradication strategies for *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. *Prilozi Makedonska akademija na naukite i umetnostite Oddelenie za bioloski i medicinski nauki Contributions Macedonian Academy of Sciences and Arts Section of Biological and Medical Sciences*, 31(1), 145-165.
11. Cloeckert, A., Verger, J.-M., Grayon, M., Paquet, J.-Y., Garin-Bastuji, B., Foster, G. & Godfroid, J. (2001). Classification of *Brucella* spp. isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the *omp2* locus. *Microbes and Infection*, 3 (9), 729-738.
12. Coelho, A. C. (2007). *Estudo seroepidemiológico da brucelose ovina e caprina na região de Trás-os-Montes*. Tese de Doutorado. Vila Real: UTAD.
13. Coelho, A. M., Coelho, A. C., Roboredo, M. & Rodrigues, J. (2007). A case-control study of risk factors for brucellosis seropositivity in Portuguese small ruminants herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 82 (3-4), 291-301.

14. Corbel, M. J. (1988). International Committee on Systematic Bacteriology Subcommittee on the Taxonomy of *Brucella*: Report of the Meeting, 5 September 1986, Manchester, England. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 38 (4), 450-452.
15. Corbel, M. J. (2006). *Brucellosis in humans and animals*. Geneva, Switzerland: WHO, FAO, OIE. Acedido em 27 Nov, 2010, from World Health Organization, Global Alert and Response Publications, disponível em:  
<http://www.who.int/csr/resources/publications/Brucellosis.pdf>
16. Crespo León, F. (1994). Influencia de los Elementos y Factores Geográficos en la Epidemiología de la Brucelosis del Ganado Ovino y Caprino. *Papeles de Geografía*, 20, 189-209.
17. Crowther, R. W., Orphanides, A. & Polydorou, K. (1977). Vaccination of adult sheep with reduced doses of *Brucella Melitensis* strain rev. 1. *Tropical Animal Health and Production* 9 (2), 85-91.
18. de Massis, F., di Girolamo, A., Petrini, A., Pizzigallo, E. & Giovannini, A. (2005). Correlation between animal and human brucellosis in Italy during the period 1997–2002. *Clinical Microbiology and Infection*, 11 (8), 632–636.
19. Decreto-Lei n.º 244/2000, de 27 de Setembro de 2000. *Diário da República I Série*. Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa
20. Despacho 8974/2007, de 17 de Maio. *Diário da República n.º 95 - II Série*. Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa
21. Díaz, R., Garatea, P., Jones, L. M. & Moriyon, I. (1979). Radial Immunodiffusion Test with a *Brucella* Polysaccharide Antigen for Differentiating Infected from Vaccinated Cattle. *Journal of Clinical Microbiology*, 10 (1), 37–41.
22. Direcção Geral de Veterinária [DGV]. (2005). Manual de Procedimentos para a Classificação Sanitária dos Efectivos: No Âmbito dos Programas de Erradicação da Tuberculose, Brucelose e Leucose Enzoótica Bovinas e da Brucelose dos Pequenos Ruminantes. Direcção Geral de Veterinária [DGV], Ministério da Agricultura Pescas e Florestas.
23. Direcção Geral de Veterinária [DGV]. (2010a). Brucelose dos Pequenos Ruminantes: Programa Especial de Controlo e Erradicação para o ano 2010 em Trás-os-Montes. Lisboa: Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas.
24. Direcção Geral de Veterinária [DGV]. (2010b). Programa de Erradicação da Brucelose dos Pequenos Ruminantes. Lisboa: Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas.
25. Directiva 64/432/CEE, de 26 de Junho de 1964. Comunidade Económica Europeia.
26. Directiva 91/68/CEE do Conselho, de 28 de Janeiro de 1991. Comunidade Económica Europeia.
27. El Sherbini, A., Kabbash, I., Bassili, A., El Shennawy, S., El Assal, M. & El Saied, N. (2005). Risk Factors and Diagnostic Criteria of Brucellosis in an Endemic Area in Egypt. *Infectious Diseases in Clinical Practice*, 13 (6), 295-299.

28. European Food Safety Authority [EFSA] & European Centre for Disease Prevention and Control [ECDC]. (2009). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. *EFSA Journal* 2011, 9(3):2090, 174-188.
29. Euzéby, J. P. (1997). *List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature*. Acedido em 4 de Outubro, 2011, disponível em: <http://www.bacterio.cict.fr/b/Brucella.html>
30. Ewalt, D. R., Payeur, J. B., Martin, B. M., Cummins, D. R. & Miller, W. G. (1994). Characteristics of a *Brucella* Species from a Bottlenose Dolphin (*Tursiops Truncatus*) *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 6 (4) 448-452.
31. Ewalt, D. R., Payeur, J. B., Rhyan, J. C. & Geer, P. L. (1997). *Brucella Suis* Biovar 1 in Naturally Infected Cattle: A Bacteriological, Serological, and Histological Study. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 9 (4), 417-420.
32. Fonseca, A. P. (2011). Situação e perspectivas do controlo da brucelose dos ovinos e caprinos em Portugal. In *Congresso Ciências Veterinárias 2011: Livro de Resumos, INRB IP / L-INIA Fonte Boa, Vale de Santarém*, (pp.69). Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias.
33. Fosgate, G. T., Carpenter, T. E., Chomel, B. B., Case, J. T., DeBess, E. E. & Reilly, K. F. (2002). Time-space clustering of human brucellosis, California, 1973-1992. *Emerging infectious diseases*, 8 (7), 672-678.
34. Franco, M. P., Mulder, M., Gilman, R. H. & Smits, H. L. (2007). Human brucellosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 7 (12), 775-786.
35. Ginja, M. M. D. (1996). Papel do cão pastor e dos roedores na manutenção de brucelose em pequenos ruminantes. Relatório Final de Estágio. Vila Real: UTAD.
36. Godfroid, J. & Käsböhrer, A. (2002). Brucellosis in the European Union and Norway at the turn of the twenty-first century. *Veterinary Microbiology*, 90 (1-4), 135-134.
37. Godfroid, J. (2002). Brucellosis in Wildlife. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 21 (2), 277-286.
38. Godfroid, J., Cloeckaert, A., Liautard, J. P., Kohler, S., Fretin, D., Walravens, K., Garin-Bastuji, B. & Letesson, J. J. (2005). From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. *Veterinary Research*, 36 (3), 313-326.
39. Gonçalves, L. (1993). *Brucelose. Contribuição para o Estudo da Zoonose na Região Agrária de Trás-os-Montes (Bragança, Vila Real e Viseu)*. Tese de Mestrado em Extensão e Desenvolvimento Rural. Vila Real: UTAD.
40. González, D., Grilló, M.-J., De Miguel, M.-J., Ali, T., Arce-Gorvel, V., Delrue, R.-M., Conde-Álvarez, R., Muñoz, P., López-Goñi, I., Iriarte, M., Marín, C.-M., Weintraub, A., Widmalm, G., Zygmunt, M., Letesson, J.-J., Gorvel, J.-P., Blasco, J.-M. & Moriyón, I. (2008). Brucellosis Vaccines: Assessment of *Brucella melitensis* Lipopolysaccharide Rough Mutants Defective in Core and O-Polysaccharide Synthesis and Export. *PLoS ONE*, 3 (7), e2760.
41. Grilló, M. J., Barberán, M. & Blasco, J. M. (1997). Transmission of *Brucella melitensis* from sheep to lambs. *Veterinary Record*, 140 (23), 602-605.

42. Grilló, M. J., Marín, C. M., Barberán, M., de Miguel, M. J., Laroucau, K., Jacques, I. & Blasco, J. M. (2009). Efficacy of *bp26* and *bp26/omp31* *B. melitensis* Rev.1 deletion mutants against *Brucella ovis* in rams. *Vaccine*, 27 (2), 187-191.
43. Hegazy, Y. M., Ridler, A. L. & Guitian, F. J. (2009). Assessment and simulation of the implementation of brucellosis control programme in an endemic area of the Middle East. *Epidemiology and Infection*, 137 (10), 1436-1448.
44. Instituto Nacional de Estatística (2011a). Efectivo caprino (N.º) por Localização geográfica (Região agrária) e Categoria (efectivo caprino). Acedido em Novembro, 2011, disponível em <http://www.ine.pt>
45. Instituto Nacional de Estatística (2011b). Efectivo ovino (N.º) por Localização geográfica (Região agrária) e Categoria (efectivo ovino). Acedido em Novembro, 2011, disponível em <http://www.ine.pt>
46. Jacques, I., Verger, J.-M., Laroucau, K., Grayon, M., Vizcaino, N., Peix, A., Cortade, F., Carreras, F. & Guilloteau, L. A. (2007). Immunological responses and protective efficacy against *Brucella melitensis* induced by *bp26* and *omp31* *B. melitensis* Rev.1 deletion mutants in sheep. *Vaccine*, 25 (5), 794-805.
47. Jahans, K. L., Foster, G. & Broughton, E. S. (1997). The characterisation of *Brucella* strains isolated from marine mammals. *Veterinary Microbiology*, 57 (4), 373-382.
48. Jiménez de Bagüés, M. P., Barberán, M., Marín, C. M. & Blasco, J. M. (1995). The *Brucella abortus* RB51 vaccine does not confer protection against *Brucella ovis* in rams. *Vaccine*, 13 (3), 301-304
49. Kahl-McDonagh, M. M., Elzer, P. H., Hagius, S. D., Walker, J. V., Perry, Q. L., Seabury, C. M., den Hartigh, A. B., Tsolis, R. M., Adams, L. G., Davis, D. S. & Ficht, T. A. (2006). Evaluation of novel *Brucella melitensis* unmarked deletion mutants for safety and efficacy in the goat model of brucellosis. *Vaccine*, 24 (24), 5169-5177.
50. Kulldorff, M. (2011). SaTScan - Software for the Spatial, Temporal and Space-Time Scan Statistic (Version 9.1.1).
51. Lane, D. M. (2011). Online Statistics Education: A Multimedia Course of Study. Acedido em 16 de Novembro, 2011, disponível em [http://onlinestatbook.com/stat\\_sim/histogram/index.html](http://onlinestatbook.com/stat_sim/histogram/index.html)
52. Lemos, M. E. (2011). O controlo da brucelose na Beira Interior na última década. In *Congresso Ciências Veterinárias 2011: Livro de Resumos, INRB IP / L-INIA Fonte Boa, Vale de Santarém*, (pp.69). Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias.
53. Lithg-Pereira, P. L., Mainar-Jaime, R. C., Álvarez-Sánchez, M. A. & Rojo-Vázquez, F. A. (2001). Evaluation of official eradication-campaigns data for investigating small-ruminant brucellosis in the province of León, Spain. *Preventive Veterinary Medicine*, 51 (3-4), 215-225.
54. MacKenzie, A. A. (2004). Food systems and the changing patterns of food-borne zoonoses. *Scientific and Technical Review - International Office of Epizootics*, 23 (2), 677-684.
55. Mainar-Jaime, R. C. & Vázquez-Boland, J. A. (1999). Associations of veterinary services and farmer characteristics with the prevalences of brucellosis and border disease in small ruminants in Spain. *Preventive Veterinary Medicine*, 40 (3-4), 193-205.

56. Mantur, B. G., Mangalgi, S. S. & Mulimani, M. (1996). *Brucella melitensis*--a sexually transmissible agent? *Lancet*, 347 (9017), 1763.
57. Marín, C. M., Moreno, E., Moriyón, I., Díaz, R. & Blasco, J. M. (1999). Performance of Competitive and Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assays, Gel Immunoprecipitation with Native Hapten Polysaccharide, and Standard Serological Tests in Diagnosis of Sheep Brucellosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 6 (2), 269-272.
58. Martin-Mazuelos, E., Nogales, M., Florez, C., Gómez-Mateos, J., Lozano, F. & Sanchez, A. (1994). Outbreak of *Brucella melitensis* among microbiology laboratory workers. *Journal of clinical microbiology*, 32 (8), 2035-2036.
59. Matope, G., Bhebhe, E., Muma, J. B., Lund, A. & Skjerve, E. (2011). Risk factors for *Brucella* spp. infection in smallholder household herds. *Epidemiology and Infection*, 139 (1), 157-164.
60. Maurin, M. (2005). La brucellose à l'aube du 21e siècle. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 35, 6-16.
61. Meador, V. P., Hagemoser, W. A. & Deyoe, B. L. (1988). Histopathologic findings in *Brucella abortus*-infected, pregnant goats. *American Journal of Veterinary Research*, 49 (2), 274-280.
62. Megersa, B., Biffa, D., Niguse, F., Rufael, T., Asmare, K. & Skjerve, E. (2011). Cattle brucellosis in traditional livestock husbandry practice in Southern and Eastern Ethiopia, and its zoonotic implication. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53 (1), 24.
63. Memish, Z. A. & Balkhy, H. H. (2004). Brucellosis and International Travel. *Journal of Travel Medicine*, 11 (1), 49-55.
64. Minas, A., Minas, M., Stournara, A. & Tselepidis, S. (2004). The "effects" of Rev-1 vaccination of sheep and goats on human brucellosis in Greece. *Preventive Veterinary Medicine*, 64 (1), 41-47.
65. Monteiro, D. O., Mestre, R. B., Fontes, A. S. & Azevedo, J. T. (2005a). A Raça Caprina Bravia. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
66. Monteiro, D. O., Mestre, R. B., Fontes, A. S. & Azevedo, J. T. (2005b). A Raça Caprina Serrana. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes.
67. Monteiro, D. O., Mestre, R. B., Fontes, A. S. & Azevedo, J. T. (2005c). A Raça Ovina Churra Badana. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
68. Monteiro, D. O., Mestre, R. B., Fontes, A. S. & Azevedo, J. T. (2005d). A Raça Ovina Churra da Terra Quente. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
69. Monteiro, D. O., Mestre, R. B., Fontes, A. S. & Azevedo, J. T. (2005e). A Raça Ovina Churra Galega Mirandesa. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
70. Monteiro, D. O., Mestre, R. B., Pimenta, A. & Azevedo, J. T. (2005). A Raça Ovina Churra Galega Bragançana. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
71. Monteiro, D. O., Mestre, R. B. & Azevedo, J. T. (2005a). O Projecto Interreg IIIA Douro/Duero Séc. XXI. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

72. Moreno, E., Cloeckert, A. & Moriyón, I. (2002). *Brucella* evolution and taxonomy. *Veterinary Microbiology*, 90 (1-4), 209-227.
73. Muñoz, P. M., Boadella, M., Arnal, M., Miguel, M. J., Revilla, M., Martínez, D., Vicente, J., Acevedo, P., Oleaga, Á., Ruiz-Fons, F., Marín, C. M., Prieto, J. M., Fuente, J. d. I., Barral, M., Barberán, M., Luco, D. F. d., Blasco, J. M. & Gortázar, C. (2010). Spatial distribution and risk factors of Brucellosis in Iberian wild ungulates. *BMC Infectious Diseases*, 10:46.
74. Muñoz, P.-M., de Miguel, M.-J., Grilló, M.-J., Marín, C.-M., Barberán, M. & Blasco, J.-M. (2008). Immunopathological responses and kinetics of *Brucella melitensis* Rev 1 infection after subcutaneous or conjunctival vaccination in rams. *Vaccine*, 26 (21), 2562-2569.
75. Naletoski, I., Kirandziski, T., Mitrov, D., Krstevski, K., Dzadzovski, I. & Acevski, S. (2010). Gaps in brucellosis eradication campaign in sheep and goats in Republic of Macedonia: lessons learned. *Croatian Medical Journal*, 51 (4), 351-356.
76. Neto, F. & Vaz, Y. (2002). Conjunctival REV 1 vaccination of adult sheep and goats in Trás-os-Montes, Portugal. *Épidémiologie et Santé Animale*, 42, 99-107.
77. Nicoletti, P. (2010). Brucellosis: past, present and future. *Prilozi*, XXXI(1), 21-32.
78. Obradović, Z. & Velić, R. (2010). Epidemiological characteristics of brucellosis in Federation of Bosnia and Herzegovina. *Croatian Medical Journal*, 51 (4), 345-350.
79. Office International des Epizooties [OIE]. (2009). OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Vol. 2, 6th edition. Paris: Office International des Epizooties. Disponible em:  
[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.07.02\\_CAPRINE\\_OVIN\\_E\\_BRUC.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.07.02_CAPRINE_OVIN_E_BRUC.pdf)
80. Osterman, B. & Moriyón, I. (2006). International Committee on Systematics of Prokaryotes; Subcommittee on the taxonomy of *Brucella*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56 (5), 1173-1175.
81. Pappas, G., Papadimitriou, P., Akritidis, N., Christou, L. & Tsianos, E. V. (2006). The new global map of human brucellosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 6 (2), 91-99.
82. Punda-Polić, V. & Cvetnić, Ž. (2006). Human brucellosis in Croatia. *The Lancet Infectious Diseases* 6 (9), 540-541.
83. Quantum GIS Development Team. (2011). Quantum GIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project (Version 1.7.1).
84. R Development Core Team. (2010). R: A Language and Environment for Statistical Computing (Version 2.12.0). Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
85. Ramirez-Pfeiffer, C., Nielsen, P., Smith, K., Marín-Ricalde, F., Rodríguez-Padilla, C. & Gomez-Flores, R. (2007). Application of the Fluorescence Polarization Assay for Detection of Caprine Antibodies to *Brucella melitensis* in Areas of High Prevalence and Widespread Vaccination. *Clinical and Vaccine Immunology*, 14 (3), 299-303.
86. Ramos, J. M., Bernal, E., Esguevillas, T., Lopez-Garcia, P., Gaztambide, M. S. & Gutierrez, F. (2008). Non-imported brucellosis outbreak from unpasteurized raw milk in Moroccan immigrants in Spain. *Epidemiology and Infection*, 136 (11), 1552-1555.

87. Reviriego, F. J., Moreno, M. A. & Domínguez, L. (2000). Risk factors for brucellosis seroprevalence of sheep and goat flocks in Spain. *Prev Vet Med*, 44 (3-4), 167-173.
88. Robinson, A. (2003). *Guidelines for Coordinated Human and Animal Brucellosis Surveillance*. Rome, Italy: FAO Animal Production and Health Paper 156. Acedido em 27 Nov, 2010, from FAO Corporate Document Repository. Disponível em: [www.fao.org/docs/eims/upload/.../y4723e00.pdf](http://www.fao.org/docs/eims/upload/.../y4723e00.pdf)
89. Roth, F., Zinsstag, J., Orkhon, D., Chimed-Ochir, G., Hutton, G., Cosivi, O., Carrin, G. & Otte, J. (2003). Human health benefits from livestock vaccination for brucellosis: case study. *Bulletin of the World Health Organization*, 81 (12), 867-876.
90. SANCO. (2009). *Working Document on Eradication of Bovine, Sheep and Goats Brucellosis in the EU accepted by the "Bovine" and "sheep and Goats" Brucellosis subgroups of the Task Force on Monitoring animal disease eradication*. Em [http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/eradication/eradication\\_bovine\\_sheep\\_goats\\_brucellosis\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/eradication/eradication_bovine_sheep_goats_brucellosis_en.pdf).
91. Saraiva, S. C. T. (2007). Análise epidemiológica dos resultados do plano de controlo e erradicação da brucelose nos pequenos ruminantes para os anos 2004 e 2005. Relatório de Estágio. Mirandela: Direcção Regional de Agricultura de Trás-os-Montes.
92. Sayan, M., Yumuk, Z., Bilenoglu, O., Erdenlig, S. & Willke, A. (2009). Genotyping of *Brucella melitensis* by *rpoB* Gene Analysis and Re-Evaluation of Conventional Serotyping Method. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 62 (2), 160-163.
93. Scharp, D. W., Sultan Al Khalaf, S. A., Al Muhanna, M. W., Cheema, R. A. & Godana, W. (1999). Use of Mass Vaccination with a Reduced Dose of REV 1 Vaccine for *Brucella melitensis* Control in a Population of Small Ruminants. *Tropical Animal Health and Production*, 31 (3), 135-141.
94. Taleski, V., Zerva, L., Kantardjiev, T., Cvetnic, Z., Erski-Biljic, M., Nikolovski, B., Bosnjakovski, J., Katalinic-Jankovic, V., Panteliadou, A., Stojkoski, S. & Kirandziski, T. (2002). An overview of the epidemiology and epizootology of brucellosis in selected countries of Central and Southeast Europe. *Vet Microbiol*, 90 (1-4), 147-155.
95. Vaz, Y. & Ellis, P. R. (1997). Problems of eradicating *Brucella melitensis* from small ruminant flocks in mountain areas of Portugal. In *Epidemiologie et Santé Animale*, Paris, (pp.04.10.01-03). L'Association pour l'Étude de l'Épidémiologie des Maladies Animales (AEEMA).
96. Wallach, J. C., Samartino, L. E., Efron, A. & Baldi, P. C. (1997). Human infection by *Brucella melitensis*: an outbreak attributed to contact with infected goats. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 19 (4), 315-321.
97. Wang, Y., Bai, Y., Qu, Q., Xu, J., Chen, Y., Zhong, Z., Qiu, Y., Wang, T., Du, X., Wang, Z., Yu, S., Fu, S., Yuan, J., Zhen, Q., Yu, Y., Chen, Z. & Huang, L. (2011). The 16MΔvjbR as an ideal live attenuated vaccine candidate for differentiation between *Brucella* vaccination and infection. *Veterinary Microbiology*, 151, 354-362.
98. Weynants, V., Gilson, D., Cloeckert, A., Denoel, P. A., Tibor, A., Thiange, P., Limet, J. N. & Letesson, J. J. (1996). Characterization of a monoclonal antibody specific for *Brucella* smooth lipopolysaccharide and development of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay to improve the serological diagnosis of brucellosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 3 (3), 309-314.

99. World Health Organization (WHO) Expert Committee with the participation of Food and Agriculture Organization (FAO). (1982). *Bacterial and viral zoonoses*. Technical Report Series. No. 682. Geneva: WHO. Em [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_682.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_682.pdf).
100. Zundel, E., Verger, J. M., Grayon, M. & Michel, R. (1992). Conjunctival vaccination of pregnant ewes and goats with *Brucella melitensis* Rev 1 vaccine: safety and serological responses. *Annals of veterinary research*, 23 (2), 177-188.

## **ANEXO I - Medidas de profilaxia e polícia sanitária do Programa Especial de Erradicação da Brucelose dos Pequenos Ruminantes para Trás-os-Montes.**

As medidas profiláticas, de vigilância e de polícia sanitária previstas pelo Programa Especial de Erradicação de Brucelose (PEB) para Trás-os-Montes são:

- Vacinação dos animais jovens;
- Controlo serológico diferencial de animais adultos não vacinados (> 6 meses), animais vacinados em adultos (> 24 meses) e animais vacinados em jovens (> 12 meses);
- Aplicação de penalizações aos infractores do PEB (como previsto pelo Decreto-Lei 244/2000, de 27 de Setembro). A indemnização é maior se o efectivo tem animais positivos pela primeira vez e menor se a exploração apresenta animais positivos repetidamente – estratégia de incentivo a boas práticas de manejo e biossegurança);
- Controlo do trânsito animal, incluindo:
  - Proibição do movimento de animais vacinados em adultos para forada região de Trás-os-Montes;
  - Permissão do movimento de animais vacinados provenientes de explorações B2 para outras explorações do mesmo estatuto ou para abate (podendo passar por centros de agrupamento);
  - Movimento de animais não vacinados provenientes de explorações B2 exclusivamente com destino ao matadouro para abate imediato (podendo passar por centros de agrupamento); e
- Destruição das carcaças dos animais abatidos

Outras medidas aplicáveis a nível da exploração e a ter em consideração são:

- Isolamento dos animais positivos;
- Proibição do tratamento para a Brucelose;
- Recolha de fetos e abortos;
- Sequestro sanitário das explorações com animais positivos (movimento animal interdito, excepto se o destino for abate imediato);
- Elaboração de Inquérito Epidemiológico a explorações com animais positivos; e
- Desinfecção das instalações e áreas adjacentes (medida da responsabilidade do produtor e supervisionada pela OPP e DIV).

## **ANEXO II – Normas para a Classificação Sanitária dos Efectivos Ovinos e Caprinos**

Segundo o Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de Setembro, os efectivos de ovinos e/ou caprinos são classificados em “Oficialmente Indemne – B4”, “Indemne – B3” e “Não indemne – B2”. De acordo com o Manual de Procedimentos para a classificação Sanitária dos Efectivos, o PISA.net possui ainda as classificações B4S, B3S e B2.1. As classificações B4S e B3S são utilizadas sempre que se suspende a classificação de um efectivo oficialmente indemne ou indemne, respectivamente. A classificação B2.1 é considerada não indemne (B2), sendo aplicada quando há confirmação oficial da presença de animais infectados, por isolamento e identificação de bactérias do género *Brucella*; permite o cálculo da incidência da Brucelose a nível de relatórios técnicos. No Anexo III podem ser consultados esquemas relativos à Obtenção, Manutenção e Subida dos Estatutos Sanitários.

### **Efectivo Ovino e/ou Caprino Oficialmente Indemne de Brucelose (B4)**

Considera-se que um efectivo de ovinos e/ou caprinos é oficialmente indemne de Brucelose se:

- Não existem sinais clínicos ou outra manifestação de Brucelose há pelo menos 12 meses em todos os animais sensíveis a esta doença;
- Não existem animais vacinados com a vacina Rev. 1 há pelo menos 2 anos;
- Foram realizados dois controlos serológicos (RBT) com resultados negativos e com pelo menos 6 meses de intervalo, a todos os animais com idade superior a 6 meses;
- Após os controlos foram respeitadas as condições de introdução de animais, sendo portanto um efectivo considerado estável relativamente à entrada e saída de animais. Estas condições para introdução de animais implicam que o repovoamento seja feito apenas com: a) animais da própria exploração, b) com animais provenientes de efectivos oficialmente indemnes (B4), ou c) animais de efectivos indemnes (B3). Estes animais deverão ser identificados individualmente, nunca deverão ter sido vacinados ou, se o foram, a vacinação deverá ter sido realizada há mais de 2 anos e antes dos 7 meses de idade; serão ainda sujeitos a isolamento relativamente ao efectivo de origem (sob controlo oficial) e a dois controlos serológicos (RBT) com intervalo de pelo menos 6 semanas e com resultados negativos.
- O efectivo se situar numa região classificada como oficialmente indemne, isto é:
  - Pelo menos 99,8% das explorações são oficialmente indemnes de Brucelose;
  - A Brucelose ovina e caprina é uma doença de declaração obrigatória há pelo menos 5 anos;
  - Não existe nenhum caso de Brucelose ovina e caprina confirmado há pelo menos 5 anos;
  - A vacinação está proibida há pelo menos 3 anos;

- Controlos aleatórios, efectuados a nível do efectivo ou do matadouro, mostram que menos de 0,2% dos animais das explorações estão infectadas ou mais de 10% dos animais foram submetidos a testes laboratoriais de vigilância sanitária.

A manutenção deste estatuto implica que:

- Nos efectivos que não se situam numa região considerada oficialmente indemne:
  - A introdução de animais respeite as condições acima citadas;
  - Seja efectuado um controlo anual de uma fracção representativa de cada efectivo com resultados negativos nos testes serológicos realizados; a periodicidade deste controlo pode ser alargada para 3 anos se os efectivos são sujeitos a um Programa de Erradicação da Brucelose e estejam situados numa região não oficialmente indemne, na qual mais de 99% dos efectivos ovinos e/ou caprinos são oficialmente indemnes.
- Nos efectivos que se situam numa região em que a percentagem de rebanhos não indemnes é superior a 0,2%:
  - O controlo serológico é realizado à totalidade dos animais.

A fracção representativa de um efectivo é composta por:

- Todos os machos não castrados com mais de 6 meses de idade;
- Todos os animais introduzidos desde o último controlo;
- 25% das fêmeas sexualmente adultas (reprodutoras) ou em lactação, sendo este número sempre superior a 50 animais (*com o mínimo de 50 animais por efectivo - eu*)(em efectivos com menos de 50 destas fêmeas, o controlo é feito a todas as fêmeas).

Sempre que o Plano de Erradicação da Brucelose não esteja a ser cumprido ou haja suspeita de brucelose, a classificação pode ser suspensa, devendo observar-se as competentes medidas de vigilância sanitária e o sequestro sanitário, com notificação do proprietário, até retirada da suspensão. (DGV)

Quando existe suspeita ou mesmo aparecimento de Brucelose num efectivo oficialmente indemne:

- A classificação desse efectivo é retirada; pode ser suspensa provisoriamente se os animais são imediatamente abatidos ou isolados enquanto se aguarda confirmação de infecção por *Brucella*;
- Os animais que reagirem positivamente à Brucelose são abatidos e é solicitado à OPP que o efectivo seja intervencionado na sua totalidade no prazo de 30 dias;
- Se há confirmação oficial de Brucelose a suspensão só é retirada após o abate de todos os animais positivos e a realização de dois controlos serológicos consecutivos, com 3 meses de intervalo e com resultados negativos ao RBT e à FCT, a todos os animais com mais de 6 meses de idade;

- Se o efectivo se situa numa região oficialmente indemne são abatidos não só todos os animais positivos mas também todos os animais de outras espécies susceptíveis de estarem infectados;
- Deverá ser efectuado um inquérito epidemiológico e testes serológicos de diagnóstico aos efectivos em contacto com o efectivo infectado; se houver confirmação de Brucelose nesses efectivos, a região pode sofrer suspensão ou perda do estatuto sanitário.

No espaço que medeia entre as colheitas de sangue e a notificação oficial dos proprietários, deverão observar-se nas explorações as competentes medidas de vigilância sanitária e controlo de movimentação dos animais.

### **Efectivo Ovino e/ou Caprino Indemne de Brucelose (B3)**

Um efectivo de ovinos e/ou caprinos é considerado indemne de Brucelose se:

- Está isento de sinais ou outras manifestações de Brucelose há pelo menos 12 meses;
- Existem animais vacinados com Rev. 1 antes dos 6 meses; os animais vacinados com mais de 18 meses e os animais não vacinados com mais de 6 meses de idade forem submetidos a dois controlos (RBT) com resultados negativos e com pelo menos 6 meses de intervalo;
- Após os controlos referidos só existirem animais nascidos na exploração ou animais provenientes de efectivos oficialmente indemnes (B4) ou de efectivos indemnes (B3); podem ainda ser introduzidos animais, individualmente identificados, provenientes de outras explorações nas quais todos os animais de espécies sensíveis à Brucelose não apresentem sinais clínicos ou outras manifestações desta doença há pelo menos 12 meses; adicionalmente, poderão ser introduzidos animais não vacinados, se isolados do efectivo de origem, sob controlo veterinário, e submetidos a dois controlos serológicos com pelo menos 6 semanas de intervalo e resultados negativos; todos os animais vacinados com Rev. 1 antes dos 6 meses de idade podem integrar um efectivo indemne, se essa vacinação ocorrer um mês antes da introdução no efectivo de destino;

A manutenção do estatuto de indemne exige que seja realizado um controlo serológico (RBT) numa fracção representativa da população (acima descrita) com resultados negativos caso o efectivo se encontrar numa região em que 99,8% dos efectivos são indemnes ou oficialmente indemnes. Nos efectivos que se situam numa região em que a percentagem de rebanhos não indemnes é superior a 0,2% o controlo serológico é realizado à totalidade dos animais.

Sempre que o Plano de Erradicação da Brucelose não esteja a ser cumprido ou haja suspeita de brucelose, a classificação pode ser suspensa, devendo observar-se as

competentes medidas de vigilância sanitária e o sequestro sanitário, com notificação do proprietário, até retirada da suspensão.

Sempre que se suspeite ou se confirme a presença de Brucelose:

- A classificação é retirada ou, alternativamente, suspensa provisoriamente se os animais forem imediatamente isolados ou abatidos;
- Os animais que reagirem positivamente à Brucelose são abatidos e é solicitado à OPP que o efectivo seja intervencionado na sua totalidade no prazo de 30 dias (dgv);
- O estatuto mantém-se se, num efectivo suspenso em que há confirmação oficial de Brucelose, se realiza o abate de todos os animais positivos e dois controlos serológicos consecutivos, com 3 meses de intervalo e com resultados negativos ao RBT e à FCT, a todos os animais não vacinados com mais de 6 meses de idade e vacinados com mais de 18 meses de idade;

Um efectivo indemne pode adquirir o estatuto de oficialmente indemne no espaço de 2 anos, quando:

- Não existe qualquer animal vacinado há pelo menos 2 anos;
- São respeitadas as condições de introdução de animais, anteriormente descritas;
- No final do segundo ano todos os animais (com mais de 6 meses de idade) apresentam resultados negativos ao RBT.

### **Efectivo Ovino e/ou Caprino Não Indemne de Brucelose (B2)**

Considera-se que um efectivo de ovinos e/ou caprinos é não indemne de Brucelose quando:

- Não reúne as condições exigidas para ser classificado como oficialmente indemne (B4) ou indemne (B3);
- Existem resultados serológicos positivos em controlos realizados com intervalos de 3 meses a todos animais com mais de 6 meses de idade, mesmo se ainda não houver isolamento do agente;
- Foram identificados ou isolados organismos do género *Brucella* (B2.1);
- O Programa de Erradicação de Brucelose não está a ser cumprido.

A subida de estatuto para Indemne (animais vacinados) ou Oficialmente Indemne (animais não vacinados) pressupõe:

- A sujeição de todos os animais a dois controlos serológicos, com intervalo de pelo menos 6 meses, e com resultados negativos;
- A não observação de casos clínicos nem o isolamento de *Brucella* nos últimos 12 meses;
- O isolamento do efectivo, garantindo que não se verifica contacto com outros animais ou partilha de pastagens com efectivos não indemnes;

- A existência de animais vacinados com Rev. 1 há pelo menos 2 anos (Subida para B3) ou a inexistência de animais vacinados com Rev. 1 há pelo menos 2 anos (subida para B4);
- O respeito pelas condições de introdução de animais.

Poderão ser introduzidos num efectivo não indemne os animais que:

- Sejam provenientes de efectivos indemnes vacinados, não gestantes, identificados individualmente e sejam acompanhados por um certificado sanitário relativo que atestem a situação do efectivo de origem;
- Sejam provenientes de efectivos não indemnes nos quais não se tenham constatado casos clínicos ou excreção activa de *Brucella* nos últimos 12 meses, devendo ainda ser identificados individualmente e não se encontrar gestantes;
- Não sendo vacinados, tenham sido mantidos isolados no efectivo de origem, sob vigilância veterinária, e tenham apresentado resultados negativos a dois controlos realizados com intervalo de pelo menos 6 semanas;
- Tenham sido vacinados antes dos 6 meses de idade e um mês antes da introdução no efectivo de destino, carecendo ainda de certificado sanitário que ateste que as condições anteriores foram satisfeitas.

Nas explorações B2 deverão ser observadas as competentes medidas de vigilância sanitária, sequestro sanitário e controlo de movimentação animal, com notificação do proprietário até o efectivo atingir o estatuto de indemne/oficialmente indemne (eu).

### **Efectivo Ovino e/ou Caprino com Isolamento e Identificação de *Brucella* (B2.1)**

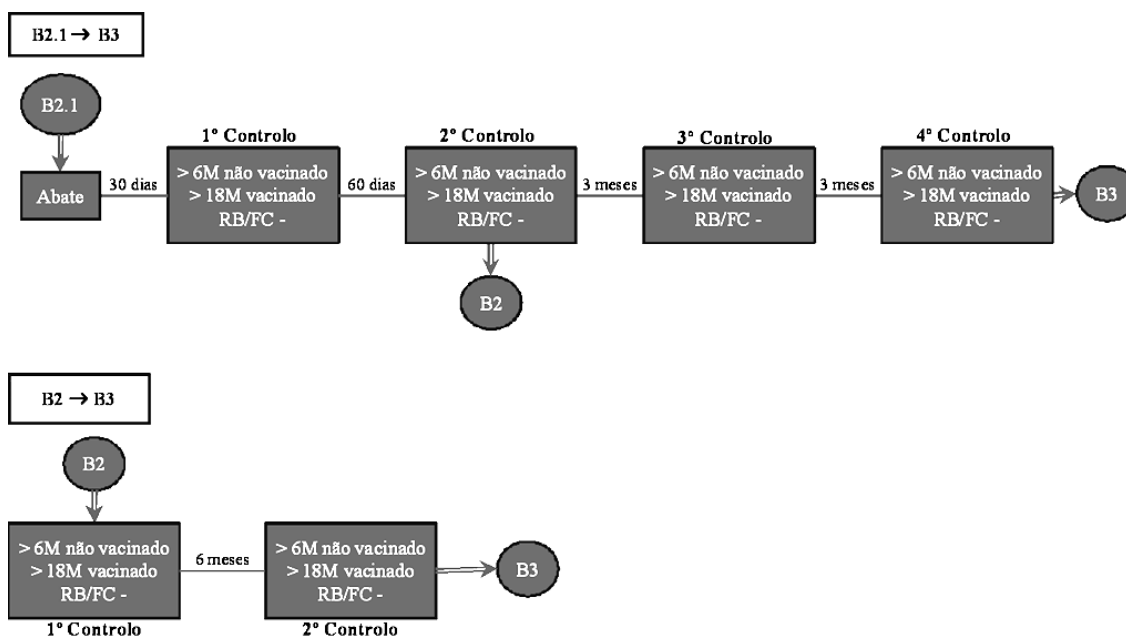
Deverão ser implementadas as seguintes medidas:

- Elaboração de Inquérito Epidemiológico na exploração infectada no prazo máximo de 2 semanas, o qual deverá referir os factores de risco que estiveram na origem da infecção;
- Colocação da exploração sob sequestro sanitário, com notificação do proprietário, até que tenha sido oficialmente eliminada a Brucelose, ou seja, até o efectivo atingir o estatuto de indemne/oficialmente indemne;
- Interdição da movimentação de animais de espécies sensíveis à Brucelose de ou para a exploração, excepto quando sejam destinados a abate sanitário;
- Os animais que tenham estado em contacto com estas explorações ou pertencentes a explorações contíguas de explorações com Brucelose oficialmente confirmada consideram-se como suspeitos e a totalidade desses efectivos é submetida a testes oficiais de diagnóstico, devendo este controlo serológico ser efectuado no prazo máximo de 30 dias.

O controlo serológico destes efectivos, e para efeitos de subida de estatuto, deverão ser realizados da seguinte forma:

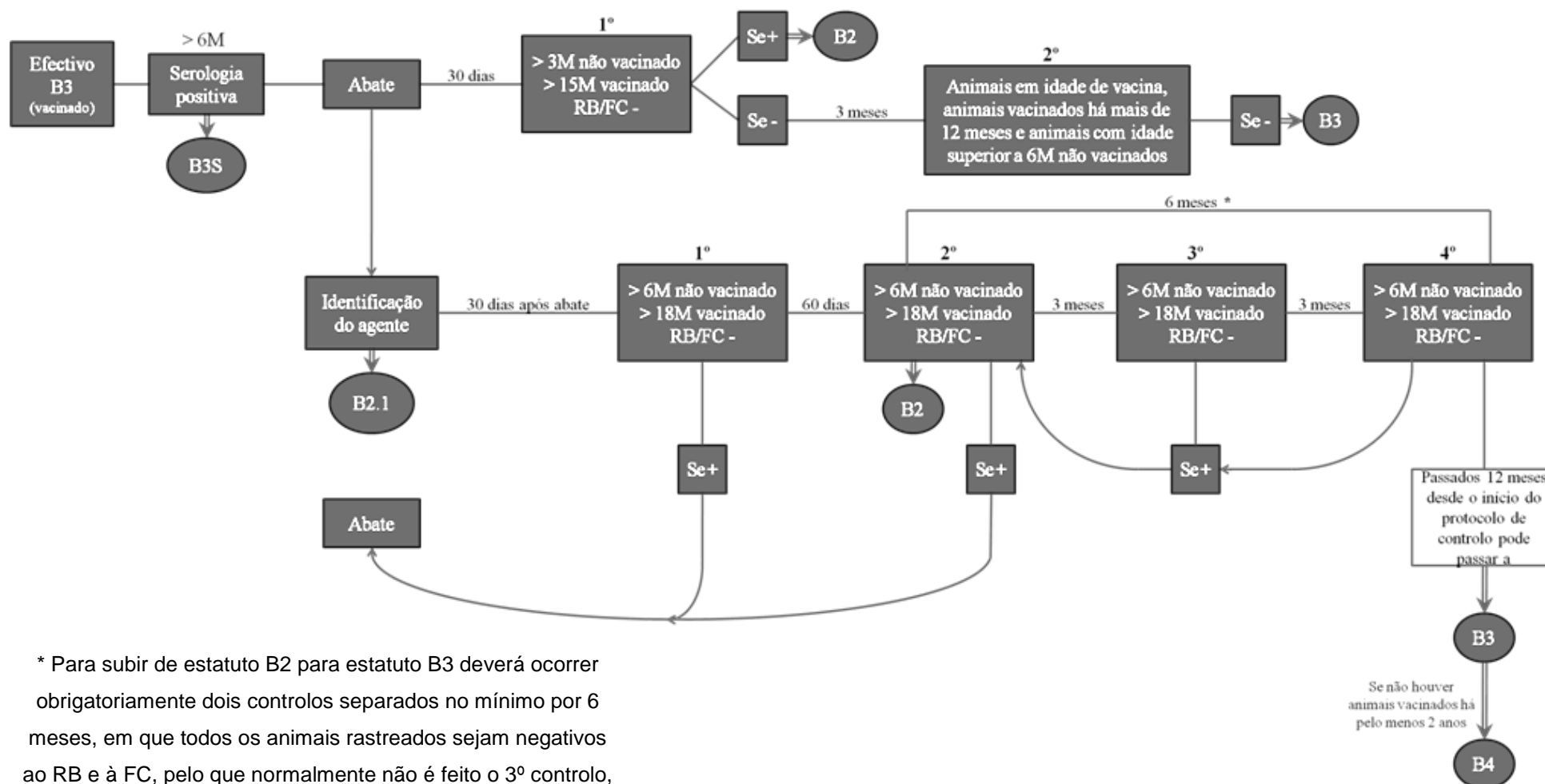
- Abate do ou dos animais positivos e controlo serológico feito à totalidade dos animais com mais de 6 meses de idade 30 dias depois, que deverão apresentar resultados negativos.
- É realizada nova serologia 60 dias depois também à totalidade dos animais; se os resultados forem negativos o efectivo é considerado não indemne (B2 – em saneamento).
- É realizado novo controlo serológico decorridos 3 meses à totalidade dos animais e, casos esses resultados sejam negativos, nova serologia após um intervalo de três meses. Se os resultados se mantiverem negativos, será atribuído o estatuto sanitário indemne de brucelose (B3).

Tanto as explorações B2 como as B2.1 podem atingir directamente estatuto B3 num período de 6 meses, como mostra o seguinte esquema:



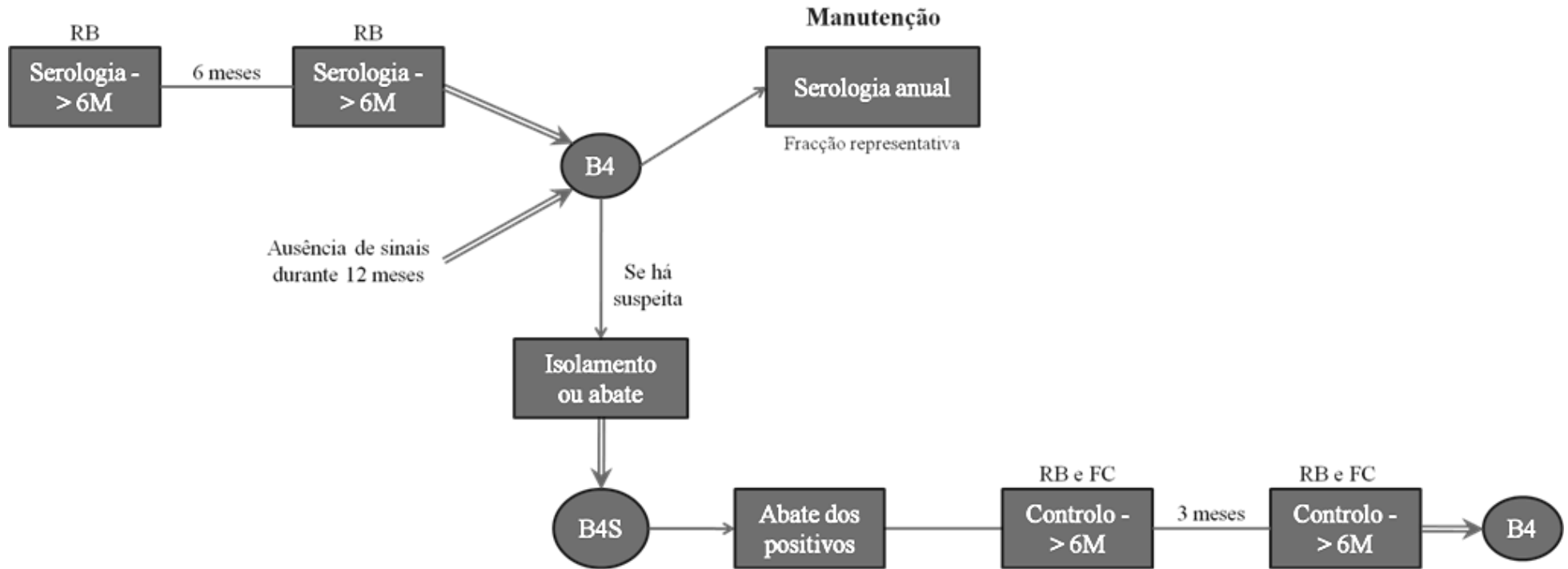
## ANEXO III – Esquemas relativos à Obtenção, Manutenção e Subida dos Estatutos Sanitários

### A. Brucelose dos Pequenos Ruminantes – Subida e Descida de Estatuto Sanitário

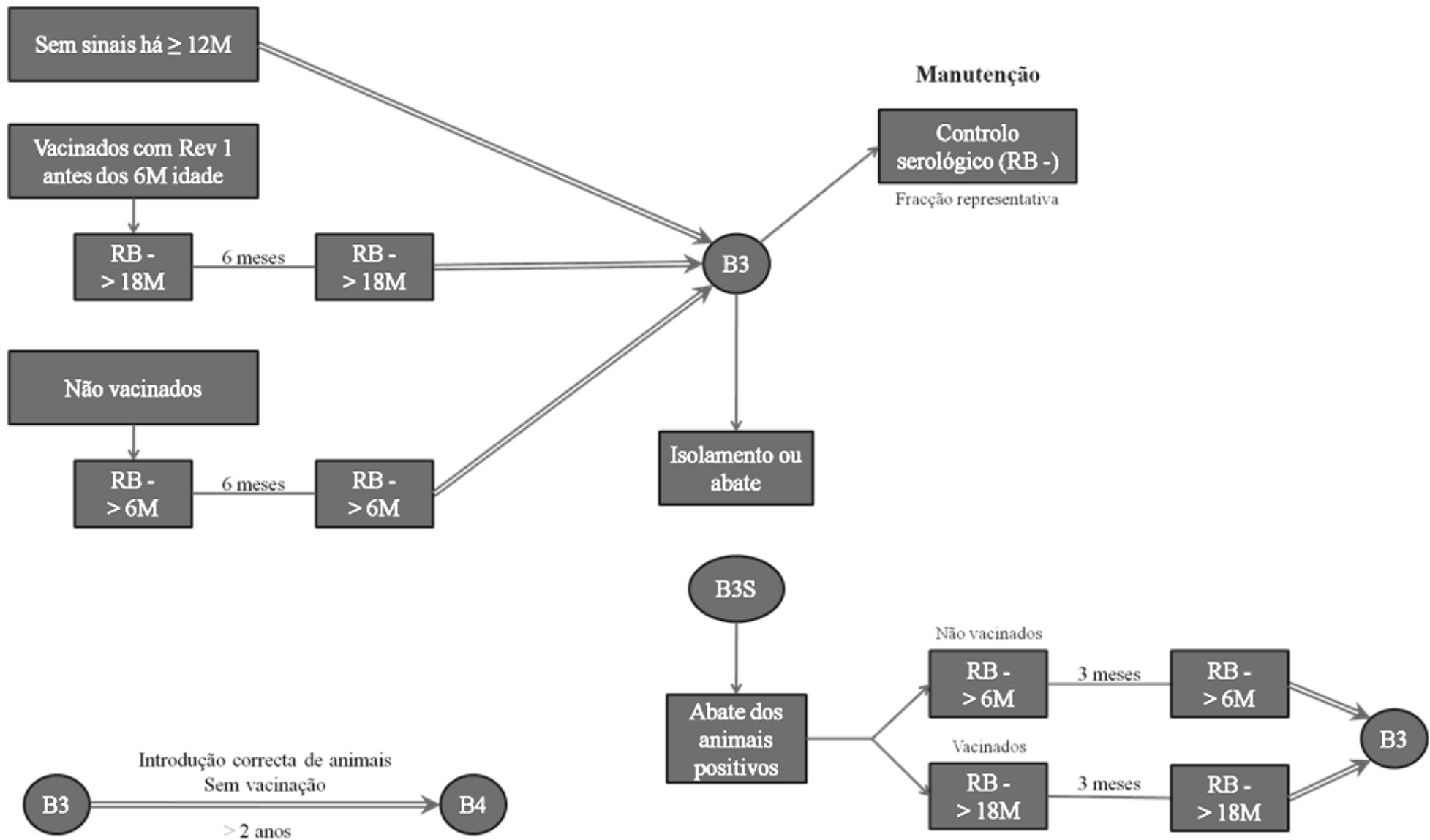


\* Para subir de estatuto B2 para estatuto B3 deverá ocorrer obrigatoriamente dois controlos separados no mínimo por 6 meses, em que todos os animais rastreados sejam negativos ao RB e à FC, pelo que normalmente não é feito o 3º controlo, passando-se para o 4º.

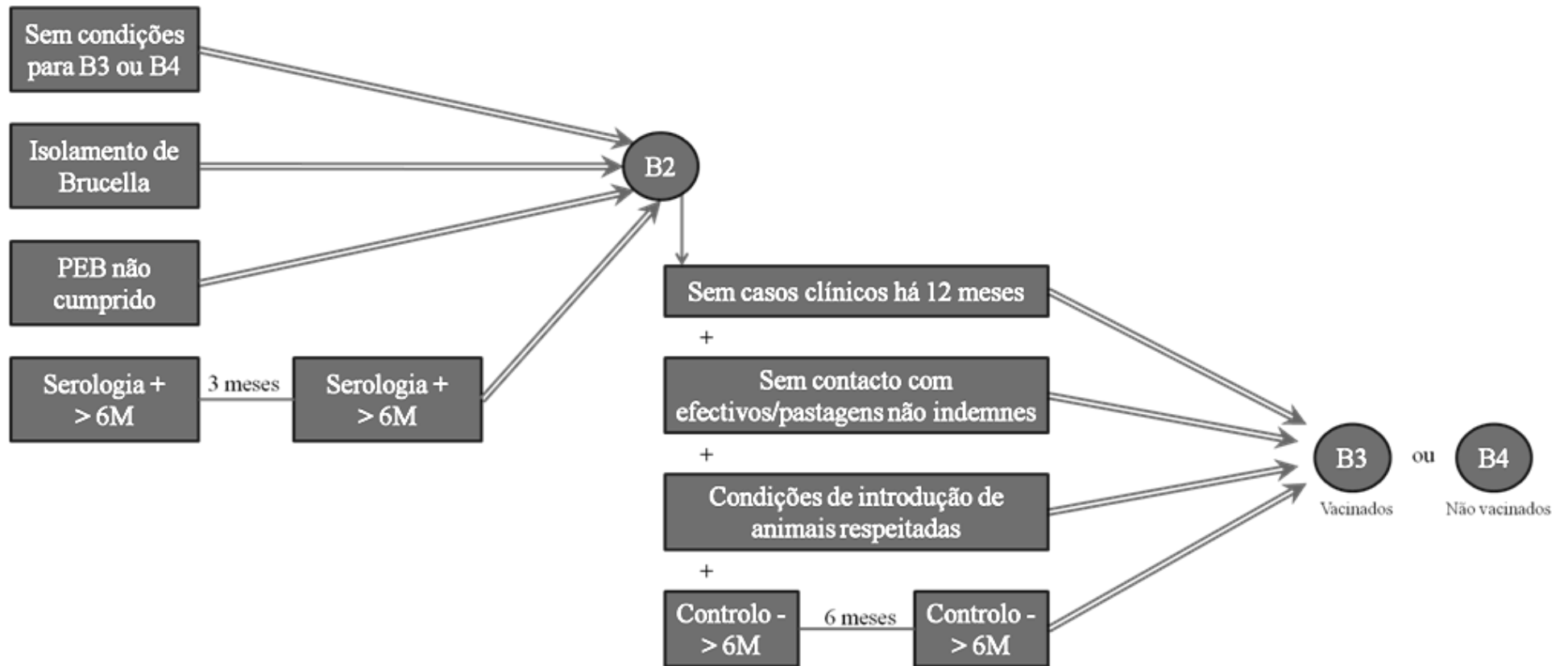
**B. Estatuto Oficialmente Indemne de Brucelose (B4) – Obtenção, Manutenção e Suspensão do Estatuto**



C. Estatuto Indemne de Brucelose (B3) – Obtenção, Manutenção, Suspensão e Subida do Estatuto



#### D. Estatuto Não Indemne de Brucelose (B2) – Obtenção e Subida do Estatuto



**ANEXO IV - Distribuição dos Inquéritos Epidemiológicos estudados por ano de realização e por Concelho/Freguesia**

Concelhos&Freguesias	Organização de Produtores Pecuários						Total Geral
	Vila Pouca de Aguiar	Tarouca	Montalegre	Chaves	Boticas	Associação Bons e Valentes	
<i>Inquéritos Epidemiológicos de 2009</i>	27	3	13	31	6		80
<b>Alijó</b>	3						3
Pegarinhos	1						1
Santa Eugénia	1						1
Vila Verde	1						1
<b>Boticas</b>					5		5
Alturas do Barroso					2		2
Beça					1		1
Boticas					1		1
Sapiãos					1		1
<b>Chaves</b>				18	1		19
Águas Frias				1			1
Cima de Vila da Castanheira				1			1
Faiões				1			1
Nogueira da Montanha				4			4
Pinho					1		1
Póvoa de Agrações				1			1
S. Julião de Montenegro				1			1
S. Pedro de Agostém				1			1
São Pedro de Agostém				2			2
São Vicente				1			1
Soutelo				2			2
Vilas Boas				2			2
Vilela do Tâmega				1			1

<b>Montalegre</b>			<b>13</b>			<b>13</b>
Cabril			3			3
Caniço			1			1
Cervos			1			1
Covêlo de Gerês			1			1
Ferral			1			1
Sarraquinhos			3			3
Viade de Baixo			1			1
Vilar de Perdizes			2			2
<b>Murça</b>	<b>8</b>					<b>8</b>
Candedo	2					2
Jou	3					3
Valongo de Milhais	3					3
<b>Peso da Régua</b>		<b>3</b>				<b>3</b>
Canelas		1				1
Galafura		1				1
Moura Morta		1				1
<b>Valpaços</b>	<b>4</b>			<b>13</b>		<b>17</b>
Algeriz				1		1
Carrazedo de Montenegro	2					2
Deimãos				1		1
Ervões				1		1
Fiães				1		1
Friões				1		1
Lebução				2		2
Padrela e Tazém	2					2
Santa Valha				1		1
Santiago de Ribeira de Alhariz				1		1

São Pedro de Veiga de Lila				1			1
Serapicos				1			1
Tinhela				2			2
<b>Vila Pouca de Aguiar</b>	<b>7</b>						<b>7</b>
Alfarela de Jales	1						1
Bornes de Aguiar	1						1
Soutelo de Aguiar	3						3
Valoura	1						1
Vreia de Jales	1						1
<b>Vila Real</b>	<b>5</b>						<b>5</b>
Lordelo	2						2
Vila Marim	2						2
Vilarinho da Samardã	1						1
<i>Inquéritos Epidemiológicos de 2010</i>	<b>38</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>11</b>	<b>58</b>
<b>Alijó</b>	<b>6</b>						<b>6</b>
Carlão	1						1
Ribalonga	1						1
São Mamede de Ribatua	1						1
Vilar de Maçada	3						3
<b>Boticas</b>					<b>3</b>		<b>3</b>
Alturas do Barroso					1		1
Beça					2		2
<b>Chaves</b>				<b>1</b>		<b>6</b>	<b>7</b>
Arcossó						2	2
Curalha						1	1
Paradela				1			1
Santa Cruz/Trindade						2	2
São Pedro de Agostém						1	1

<b>Montalegre</b>			<b>1</b>				<b>1</b>
Cambeses do Rio			1				1
<b>Sabrosa</b>	<b>2</b>						<b>2</b>
Paradela de Guiães	1						1
Torre do Pinhão	1						1
<b>Sta Marta de Penagião</b>		<b>3</b>					<b>3</b>
Fontes		3					3
<b>Valpaços</b>	<b>1</b>			<b>1</b>		<b>5</b>	<b>7</b>
Fiães						1	1
Lebução						1	1
Sanfins				1			1
Santa Maria de Émeres	1					2	3
Santa Valha						1	1
<b>Vila Pouca de Aguiar</b>	<b>19</b>						<b>19</b>
Gouvães da Serra	5						5
Pensalvos	1						1
Telões	5						5
Tresminas	1						1
Vreia de Jales	7						7
<b>Vila Real</b>	<b>10</b>						<b>10</b>
Borbela	1						1
Guiães	1						1
Mondrões	2						2
Mouçós	1						1
Pena	1						1
S. Tomé do Castelo	1						1
Vale de Nogueiras	3						3
<b>Total Geral</b>	<b>65</b>	<b>6</b>	<b>14</b>	<b>33</b>	<b>9</b>	<b>11</b>	<b>138</b>

**ANEXO V – Inquérito Epidemiológico Brucelose dos Pequenos Ruminantes, Mod. 266/DGV**



Ministério da  
Agricultura,  
do Desenvolvimento  
Rural e das Pescas

DGV  
Direcção Geral  
de Veterinária

**INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO**

**BRUCELOSE DOS RUMINANTES**

**PORTUGAL**

**MOD. 266/DGV**

**INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO**

**BRUCELOSE DOS RUMINANTES**

ENTIDADE  RELATÓRIO N°  ANO

**1- IDENTIFICAÇÃO DO PROPRIETÁRIO**

NOME

MORADA

LOCALIDADE

FREGUESIA  CONCELHO

CÓDIGO POSTAL  DISTRITO

TELEFONE

NÃO SÓCIO/SÓCIO N°  OPP

**2- IDENTIFICAÇÃO DA EXPLORAÇÃO**

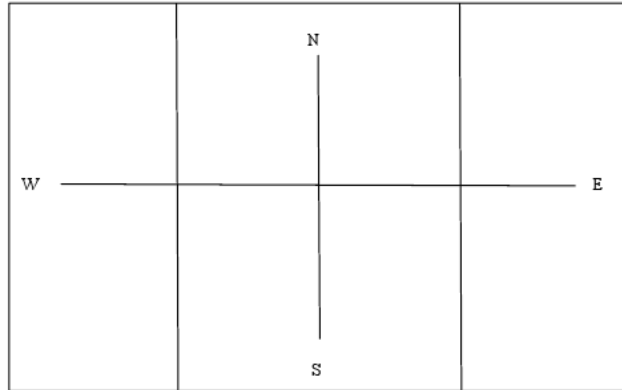
MORADA

FREGUESIA

CÓDIGO POSTAL

MARCA DE EXPLORAÇÃO N°

2.1 LOCALIZAÇÃO DA EXPLORAÇÃO RELATIVAMENTE ÀS EXPLORAÇÕES VIZINHAS ( assinale a distância entre elas )



2.2 EXISTEM OUTRAS PROPRIEDADES REGISTRADAS PELO MESMO PROPRIETÁRIO?

SIM

NÃO

IDENTIFICAÇÃO/LOCALIZAÇÃO

EFFECTUA TRANSFERÊNCIAS DE ANIMAIS ENTRE AS EXPLORAÇÕES ?

SIM

NÃO

3 - EFECTIVO

- 3.1 - ANIMAIS EXISTENTES NA EXPLORAÇÃO :
- BOVINOS
  - OVINOS
  - CAPRINOS
  - OUTROS

3.2. CONSTITUIÇÃO DO EFECTIVO À DATA DA ÚLTIMA INTERVENÇÃO

SANITÁRIA, EFECTUADA EM -----/-----/-----

	Bovinos Leite			Bovinos Carne			Ovinos Leite			Ovinos Carne			Caprinos			TOTALS
	F	M	C	F	M	C	F	M	C	F	M	C	F	M	C	
Constituição Do Efectivo																
Animais Rastreados																
Animais Positivos																
Animais Negativos																
Soros Prejudicados																
TOTAL																
TOTALGERAL																

3.3 . CONSTITUIÇÃO ACTUAL DO EFECTIVO

Bovinos Leite			Bovinos Carne			Ovinos Leite			Ovinos Carne			Caprinos			TOTAL
F	M	C	F	M	C	F	M	C	F	M	C	F	M	C	

3.4 CONTROLO SOROLÓGICO EFECTUADO NOS ÚLTIMOS 2 ANOS :

DATA	Nº DE ANIMAIS CONTROLADOS	Nº DE ANIMAIS POSITIVOS



4.6 – SE OS ANIMAIS FORAM IMPORTADOS, INDIQUE :

CERTIFICADO INTERNACIONAL Nº [ ] DE ----- / ----- / -----

DE [ ]

4.7 - FEZ A QUARENTENA DOS ANIMAIS ?

SIM [ ]

NÃO [ ]

DE QUANTOS DIAS ? [ ]

4.8 – SAÍDAS :

BOVINOS [ ]

OVINOS [ ]

CAPRINOS [ ]

DESTINO [ ]

GUIA DE TRANSITO Nº [ ] EMITIDA EM ----- / ----- / -----

• CONDIÇÕES DE HIGIENE DOS ANIMAIS :

BOA [ ]

SATISFAZ [ ]

NÃO SATISFAZ [ ]

OBSERVAÇÕES [ ]

[ ]

[ ]

[ ]

• HOUVE ALTERAÇÕES DE MANEIO ?

SIM [ ]

NÃO [ ]

ESPECIFIQUE ? [ ]

[ ]

126

## 5 - MANEIO

5.1 – HIGIENE E DESINFECÇÕES:

• FREQUÊNCIA DA REMOÇÃO DE :

- ESTRUMES [ ]

- CAMAS [ ]

- NITREIRAS [ ]

• REGULARIDADE DAS :

PRODUTO UTILIZADO

- DESINFECÇÕES [ ] [ ]

- DESINSECTIZAÇÕES [ ] [ ]

- DESRATIZAÇÕES [ ] [ ]

5.2 - MANEIO REPRODUTIVO :

• ÉPOCA DE PARTOS [ ]

• LOCAL DE PARTOS [ ]

• QUEM FAZ OS PARTOS ? [ ]

• HÁ ISOLAMENTO DOS ANIMAIS DURANTE A ÉPOCA DE PARTOS ?

SIM [ ]

NÃO [ ]

OBSERVAÇÕES [ ]

[ ]

• OS ANIMAIS SÃO ISOLADOS DURANTE QUANTO TEMPO ? [ ]

ANTES DO PARTO [ ] DIAS

APÓS O PARTO [ ] DIAS

OBSERVAÇÕES [ ]

[ ]

- ENTERRA OU DESTROI OS FETOS, OS ABORTOS OU OS NADOS MORTOS, AS CRIAS POUCO VIÁVEIS QUE MORREM E AS MEMBRANAS FETAIS ?

SIM  NÃO

OBSERVAÇÕES

- RECORRE À INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL NA SUA EXPLORAÇÃO ?

SIM  NÃO

- SÃO EFECTUADAS TRANSFERÊNCIAS EMBRIONÁRIAS NA EXPLORAÇÃO ?

SIM  NÃO

- EFECTUA TROCA DE REPRODUTORES COM OUTROS PROPRIETÁRIOS ?

SIM  NÃO

- ONDE ADQUIRE OS ANIMAIS REPRODUTORES ?

### 5.3 – ALIMENTAÇÃO :

- QUAL A ORIGEM DA ÁGUA DE BEBIDA ?

- USA COMEDOUROS E BEBEDOUROS ?

SIM  NÃO

DESCREVA :

- ALIMENTA/ALIMENTOU OS VITELOS COM LEITE E COLOSTRO DOS ANIMAIS INFECTADOS?

SIM  NÃO

IDENTIFICAÇÃO DOS VITELOS

- FAZ FENAÇÃO DOS PASTOS ?

SIM  NÃO

### 5.4 – PRÁTICA A TRANSMÂNÇA ?

SIM  NÃO

IDENTIFIQUE OS EFECTIVOS COM QUEM PARTILHA A PASTAGEM :

### 6 – ANTECEDENTES SANITÁRIOS

ASSINALE AS SITUAÇÕES QUE ALGUMA VEZ OCORRERAM NA EXPLORAÇÃO:

	POSITIVO	DUVIDOSO	NOS CASOS AFIRMATIVOS, DATA APROX. DA ÚLTIMA OCORRÊNCIA	
BRUCELOSE	ROSA BENGALA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	----- / ----- / -----
	FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	----- / ----- / -----
	AGLUTINAÇÃO LENTA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	----- / ----- / -----
	OUTRAS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	----- / ----- / -----

**7 - FAZ A SEPARAÇÃO DOS ANIMAIS DECLARADOS COMO INFECTADOS ?**

SIM  NÃO

**8 - É EFECTUADA A MARCAÇÃO A FOGO DE FORMA INDELÉVEL DOS ANIMAIS REAGENTES ?**

SIM  NÃO

**9 - PROFILAXIA**

**9.1 OS ANIMAIS SÃO VACINADOS PARA A BRUCELOSE ?**

SIM  NÃO

**9.2 QUAL A VACINA UTILIZADA ?**

**9.3 EXISTEM ANIMAIS REAGENTES VACINADOS ?**

SIM  NÃO

**QUANTOS ?**

**10 - QUAL O TEMPO MÉDIO DE PERMANÊNCIA DOS ANIMAIS SEROPOSITIVOS NA EXPLORAÇÃO ATÉ AO ABATE SANITÁRIO ?**

DIAS

**11 - IRREGULARIDADES SANITÁRIAS:**

RECUSA	SANEAMENTO	<input type="checkbox"/>
	MARCAÇÃO DE ANIMAIS POSITIVOS	<input type="checkbox"/>
	LEVANTAMENTO DE ANIMAIS POSITIVOS	<input type="checkbox"/>
	IDENTIFICAÇÃO	<input type="checkbox"/>
	VIOLAÇÃO DO SEQUESTRO	<input type="checkbox"/>

**ESPECIFIQUE :**

**12 - TEM IDENTIFICAÇÃO PRÓPRIA DA EXPLORAÇÃO ?**

SIM  NÃO

**13 - VENDE PRODUTOS/ANIMAIS DA SUA EXPLORAÇÃO ?**

SIM  NÃO

QUAIS ?

- LEITE
- QUEIJO  QUE TIPO DE QUEIJO
- BORREGOS
- VITELLOS
- OUTROS

**COMO EFECTUA ESSA VENDA**

**14 - BEBE LEITE CRÚ ?**

SIM  NÃO

**15 - COME QUEIJO FRESCO ?**

SIM  NÃO

**16 - QUE TIPO DE ORDENHA UTILIZA NA SUA EXPLORAÇÃO ?**

ORDENHA MANUAL  ORDENHA MECANICA

**17 - TEM CÃES PASTORES ?**

SIM  NÃO

**18 - OS CÃES COMEM OS PRODUTOS DO PARTO E ABORTOS ?**

SIM  NÃO  ESPORADICAMENTE

**19 - IDENTIFIQUE OS SINAIS CLÍNICOS DO REBANHO :**

ABORTOS                       PROBLEMAS DE FERTILIDADE   
METRITES                       MAMITES   
ORQUITES                       BAIXA DE PRODUÇÃO DE LEITE/ CARNE   
RETENÇÃO PLACENTÁRIA

**19.1- OCORREU ALGUM CASO DE INFECÇÃO HUMANA ?**

SIM                       NÃO

**20 – ENVIO DE MATERIAL PARA O LABORATÓRIO ?**

SIM                       NÃO

MATERIAL ENVIADO   
NOME LABORATÓRIO   
RESULTADO LABORATORIAL

**21- CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTOR FACE AO PROGRAMA DE ERRADICAÇÃO DA BRUCELOSE :**

**22 - ANÁLISE DA SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA ACTUAL NA OPINIÃO DO MÉDICO VETERINÁRIO ( RESPONSÁVEL TÉCNICO DA EXPLORAÇÃO ) :**

- AVALIAÇÃO DOS FACTORES DE RISCO DETERMINANTES NA ORIGEM DA

INFECÇÃO :

- PREVALÊNCIA DA DOENÇA :

- INCIDÊNCIA DA DOENÇA :

- CONSIDERA ÚTIL ELABORAR UM P.I.S. ?

SIM                       NÃO

QUAIS AS MEDIDAS PROPOSTAS ?

- QUE MEDIDAS CONSIDERA ÚTEIS NO SENTIDO DE LIMITAR A EXPOSIÇÃO DOS ANIMAIS SENSÍVEIS À DOENÇA ?

RESPONSÁVEL TÉCNICO

**23 - CONCLUSÕES :**


**24 - OBSERVAÇÕES :**


130

DATA : 

--

MÉDICO VETERINÁRIO :

NOME 

--

ASSINATURA 

--

## ANEXO VI – Inquérito Epidemiológico Brucelose dos Pequenos Ruminantes, Mod. 836/DGV

### BRUCELOSE DOS PEQUENOS RUMINANTES - INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO

Explorações com Ovinos e/ou Caprinos Sero-Positivos  / Focos de Brucelose

#### PARTE I – Dados dos Serviços Oficiais

**Objectivo:** Caracterização da exploração, de acordo com os elementos constantes dos registos oficiais

#### 1 - Caracterização da Exploração e Assistência Veterinária Sanitária

##### 1.1. Dados Identificativos da Exploração

MOE \_\_\_\_\_ Detentor \_\_\_\_\_ Telef./Telem. \_\_\_\_\_  
 Local \_\_\_\_\_ Localidade/Freguesia \_\_\_\_\_ Concelho \_\_\_\_\_  
 Geo-referenciação (facultativa): Lat. \_\_\_\_\_ Long. \_\_\_\_\_  
 OPP \_\_\_\_\_ Não aderente a OPP

##### 1.2. Efectivo da exploração:

Ruminantes (Espécie)	♀	♂	Crías	TOTAL
Ovinos				
Caprinos				
Outros:				
Outros:				

##### 1.3. Assistência Veterinária Sanitária - Médico Veterinário Executor:

Nome \_\_\_\_\_  
 Cédula Profissional nº \_\_\_\_\_ Contacto telefónico \_\_\_\_\_

#### 2 – Caracterização Sanitária

##### 2.1. Classificação Sanitária: B \_\_\_\_\_

##### 2.2. Vacinação contra Brucelose: Não Sim (Anexo 1 - listagem PISA)

Tipo de vacina utilizada: \_\_\_\_\_ Data de início do programa vacinal \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Data da última vacinação \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Nº animais vacinados na última vacinação \_\_\_\_\_  
 Taxa de cobertura: \_\_\_\_\_% (nº total de animais vacinados / total de animais com mais de 3 meses)  
 Há animais vacinados seroreagentes? Sim  Não

##### 2.3. História prévia de Brucelose na exploração: Listagem de intervenções, resultados de rastreios e classificações dos últimos 3 anos (Anexo 2 - listagem PISA)

Animais seroreagentes nos últimos 5 anos:

Marca Auncular / Quantidade de animais	Data Intervenção	Resultado RB	Resultado FC	Forma de marcação do animal	Nº dias entre conhecimento dos resultados e abate	Envio de material para análise	Resultado Isolamento do agente

Colheita sangue a cães  Resultado \_\_\_\_\_ Tratamento \_\_\_\_\_

#### 3 - Irregularidades

Recusa de saneamento  Recusa de vacinação contra Brucelose   
 Recusa de levantamento de animais seroreagentes  Compra de animais sem documentação   
 Outra / Observações: \_\_\_\_\_  
 Auto de notícia Não  Sim

### BRUCELOSE DOS PEQUENOS RUMINANTES - INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO

Explorações com Ovinos e/ou Caprinos Sero-Positivos  / Focos de Brucelose

#### PARTE II – Visita à exploração

**Objectivo:** Caracterização da exploração por observação, avaliação da origem da infecção e avaliação da sua possível difusão para outras explorações.

#### 1- Caracterização da Exploração

##### 1.1. Efectivo presente na exploração:

Ruminantes (Espécie)	♀	♂	Crías	TOTAL
Ovinos				
Caprinos				
Outros: _____				
Outros: _____				

##### 1.2. Aptidão produtiva / Regime de Produção:

Leite  Carne  Mista  /Intensivo  Semi-intensivo  Extensivo

##### 1.3. Venda / Consumo de produtos da exploração:

**Vende leite** Não  Sim  Destino \_\_\_\_\_ Recolha \_\_\_\_\_  
**Tem refrigeração na exploração** Não  Sim  Tipo \_\_\_\_\_  
**Vende queijo** Não  Sim  Tipo de queijo \_\_\_\_\_  
**Vende borregos** Não  Sim  Destino \_\_\_\_\_  
**Consome da produção própria** Não  Sim  : leite cru  queijo fresco  queijo curado  borregos

##### 1.4. Higiene da exploração:

**Limpeza e desinfecção:** Periodicidade \_\_\_\_\_  
**Utilização dos estrumes/chorumes:** Destino \_\_\_\_\_  
**Apreciação das condições de higiene da exploração:** Boas  Suficientes  Más   
**Condições para isolamento de animais na exploração** Não  Sim  Descrição \_\_\_\_\_

1.5. Partos:

Sazonais: Não  Sim   
 Cuidados na assistência aos partos: Não  Sim  Isolamento das fêmeas: Não  Sim   
 Destino das secundinas/abortos: \_\_\_\_\_

1.6. Reposição do efectivo reprodutor (fêmeas):

Auto-reposição Não  Sim  Compra no exterior Não  Sim

2- Ocorrências sanitárias

2.1. Abortos nos últimos 12 meses:

Data	Quantidade de abortos	Meses gestação	Suspeita clínica (doença)	Caracterização dos achados clínicos	Recolha para análise	Quantidade de amostras	Data colheita	Resultado
					Não <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/>			
					Não <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/>			
					Não <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/>			

2.2. Problemas de fertilidade das fêmeas, machos e de mortalidade neonatal: Não  Sim

Data	Caracterização

2.3. Zoonose:

Data	Pessoas atingidas

3 - Origem e difusão da Infecção (\*dados dos últimos 12 meses): (Anexo 3 - Listagem dos animais introduzidos na exploração nos últimos 12 meses (data, marca auricular, idade, MOE de origem e respectiva classificação sanitária)

3.1. Introdução de animais: Não  Sim

Início do período a que se referem os dados: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

	♂	♀ não gestantes	♀ gestantes	Finalidade produtiva dos animais introduzidos	Data de entrada (adquiridos ou ofertados) / Tempo de permanência (animais emprestados)
Ovinos adquiridos / recebidos em oferta				Reprodução <input type="checkbox"/> Produção leite/carne <input type="checkbox"/>	
Ovinos que entraram por empréstimo				Reprodução <input type="checkbox"/> Produção leite/carne <input type="checkbox"/>	
Caprinos adquiridos / recebidos em oferta				Reprodução <input type="checkbox"/> Produção leite/carne <input type="checkbox"/>	
Caprinos que entraram por empréstimo				Reprodução <input type="checkbox"/> Produção leite/carne <input type="checkbox"/>	
Outros rumin. adquiridos / recebidos em oferta				Reprodução <input type="checkbox"/> Produção leite/carne <input type="checkbox"/>	
Outros rumin. que entraram por empréstimo				Reprodução <input type="checkbox"/> Produção leite/carne <input type="checkbox"/>	

Origens dos animais:

Data	Tipo Expl. / CA / Negociante	MOE (Expl. ou CA) / Nome (Negociante ou transportador)	Documento de transporte	Classificação sanitária de origem	Quantidade de animais introduzidos	MAO dos animais introduzidos sero-resistentes
					Ovinos ____ Caprinos ____ Outros ____	
					Ovinos ____ Caprinos ____ Outros ____	
					Ovinos ____ Caprinos ____ Outros ____	
					Ovinos ____ Caprinos ____ Outros ____	
					Ovinos ____ Caprinos ____ Outros ____	

3.2. Saída de animais da exploração (excluindo o destino matadouro): Não  Sim

Início do período a que se referem os dados: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data	Tipo Expl. / CA / Negociante	MOE (Expl. ou CA) / Nome (Negociante ou transportador)	Classificação sanitária de destino	Quantidade de animais

3.3. Contactos directos com ruminantes de outras explorações: Não  Sim

MOE	Classificação	Espécies existentes	Tipo de contacto	Situações
		<input type="checkbox"/> Ovinos <input type="checkbox"/> Caprinos <input type="checkbox"/> Outros ruminantes _____	<input type="checkbox"/> Acidental <input type="checkbox"/> Pouco frequente <input type="checkbox"/> Frequente	<input type="checkbox"/> Vedações <input type="checkbox"/> Transumância <input type="checkbox"/> Pastos comuns <input type="checkbox"/> Caminhos partilhados
		<input type="checkbox"/> Ovinos <input type="checkbox"/> Caprinos <input type="checkbox"/> Outros ruminantes _____	<input type="checkbox"/> Acidental <input type="checkbox"/> Pouco frequente <input type="checkbox"/> Frequente	<input type="checkbox"/> Vedações <input type="checkbox"/> Transumância <input type="checkbox"/> Pastos comuns <input type="checkbox"/> Caminhos partilhados
		<input type="checkbox"/> Ovinos <input type="checkbox"/> Caprinos <input type="checkbox"/> Outros ruminantes _____	<input type="checkbox"/> Acidental <input type="checkbox"/> Pouco frequente <input type="checkbox"/> Frequente	<input type="checkbox"/> Vedações <input type="checkbox"/> Transumância <input type="checkbox"/> Pastos comuns <input type="checkbox"/> Caminhos partilhados

**3.4. Esquema das explorações confinantes geograficamente:**

Incluir MOE e classificações sanitárias das explorações envolventes e indicar os pontos de contacto em todo o perímetro da exploração

N  
O E  
S

**3.4. Contactos directos com animais silváticos:** Não  Sim

Espécie	Tipo de contacto	Observações
	<input type="checkbox"/> Acidental <input type="checkbox"/> Pouco frequente <input type="checkbox"/> Frequente	
	<input type="checkbox"/> Acidental <input type="checkbox"/> Pouco frequente <input type="checkbox"/> Frequente	
	<input type="checkbox"/> Acidental <input type="checkbox"/> Pouco frequente <input type="checkbox"/> Frequente	

**3.5. Opinião do proprietário sobre a origem provável da doença:**

Sem opinião   
 Re-ocorrência  Introdução animais  Vizinhança  Transumância /mistura animais/pastos comuns   
 Outras causas  \_\_\_\_\_

**3.6. Opinião do veterinário executor sobre a origem provável da doença:**

Re-ocorrência  Introdução animais  Vizinhança  Transumância /mistura animais/pastos comuns   
 Outras causas  \_\_\_\_\_

**4 – Conclusões e recomendações**

**4.1. Observações**

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

**4.2. Provável origem da infecção:**

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

**4.3. Recomendações de medidas de controlo:**

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Relator \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Informações prestadas pelo detentor da exploração Sim  Não

Se não, identificar:

Nome \_\_\_\_\_

Função/ grau parentesco \_\_\_\_\_

**BRUCELOSE DOS PEQUENOS RUMINANTES - INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO**  
**Explorações com Ovinos e/ou Caprinos Sero-Positivos / Focos de Brucelose**

**PARTE III**

*Objectivo: Sumário das explorações epidemiologicamente relacionadas e sua caracterização*

**Explorações epidemiologicamente relacionadas**

MOE	Nº animais	Classif.Sanitária	Abortos	Resultados Laboratoriais
	Ovinos _____ Caprinos _____ Outros _____		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
	Ovinos _____ Caprinos _____ Outros _____		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
	Ovinos _____ Caprinos _____ Outros _____		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
	Ovinos _____ Caprinos _____ Outros _____		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
	Ovinos _____ Caprinos _____ Outros _____		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
	Ovinos _____ Caprinos _____ Outros _____		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
	Ovinos _____ Caprinos _____ Outros _____		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
	Ovinos _____ Caprinos _____ Outros _____		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
	Ovinos _____ Caprinos _____ Outros _____		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
	Ovinos _____ Caprinos _____ Outros _____		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	

	Ovinos _____ Caprinos _____ Outros _____		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
	Ovinos _____ Caprinos _____ Outros _____		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
	Ovinos _____ Caprinos _____ Outros _____		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	

**Observações**

---



---



---



---



---



---

**ANEXOS**

**Anexo 1**  *Listagem de todos os animais vacinados na exploração*

**Anexo 2**  *Listagem de rastreios, respectivos resultados e classificações dos últimos 3 anos*

**Anexo 3**  *Listagem dos animais introduzidos na exploração nos últimos 12 meses (data, marca auricular, idade, MOE de origem e respectiva classificação sanitária)*

## ANEXO VII – Material Complementar

### Distribuição do número de explorações vizinhas



### Respostas obtidas nos IE quanto à entrada de animais e guias de trânsito

Concelho	Entrada de Ovinos		Entrada de Caprinos		Entrada de Bovinos		Entrada Total de animais	Guias de Trânsito
	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não		
Alijó		3		4		1	0	
Boticas		2		1		1	0	
Chaves	5	9	3	8		8	8	5
Montalegre		1		1	1	1	1	1
Murça	1	6		7		7	1	1
Peso da Régua		3		3		3	0	
Sabrosa							0	
Sta Marta de Penagão	2	1	2	1			4	1
Valpaços	3	7		1	1		4+1*	2
Vila Pouca de Aguiar	1	8	1	5		1	2+1*	2
Vila Real	2	4		1			2	2
<b>Total Geral</b>	<b>14</b>	<b>44</b>	<b>6</b>	<b>32</b>	<b>2</b>	<b>22</b>	<b>22</b>	<b>14</b>

\*espécie animal desconhecida; tratou-se de uma compra de animais sem documentação

### Questões sem resposta nos IE realizados

Questões do IE	Sem dados	Total IE	%
Entrada de Animais	97	138	70.3
Saída de Animais	97	138	70.3
Venda de queijo fresco	76	138	55.1
Venda de leite	72	138	52.2
Destruição de Secundinas	30	138	21.8
Regime Produtivo	12	58	20.7
Assistência aos partos	8	58	13.8
Existência de animais sero-reagentes	19	138	13.8
N.º de explorações vizinhas	15	138	10.9
Aptidão Zootécnica	6	58	10.3
Local para isolamento dos animais	6	58	10.3
Venda de borregos/cabritos	13	138	9.4
Frequência de L&D	9	138	6.5
Higiene dos Aniamis/Instalações	9	138	6.5
Venda de queijo curado	9	138	6.5
Isolamento de fêmeas gestantes	8	138	5.8
Origem dos reprodutores	8	138	5.8
Dias entre teste e abate	7	138	5.1
N.º de animais na exploração no momento do IE	5	138	3.6
Época de Partos	5	138	3.6
Frequência de desinsectização	1	80	1.3
Frequência de desratização	1	80	1.3
Existência de comedouros	1	80	1.3