



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal

PREVALÊNCIA DA BRUCELOSE BUBALINA NO DISTRITO FEDERAL (2020)

VINÍCIUS EUSTÁQUIO BARRETO CAMPOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: 172/2020

BRASÍLIA/DF

AGOSTO/2020



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal

PREVALÊNCIA DA BRUCELOSE BUBALINA NO DISTRITO FEDERAL (2020)

VINÍCIUS EUSTÁQUIO BARRETO CAMPOS

ORIENTADOR: FABIANO JOSÉ FERREIRA DE SANT'ANA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: 172/2020

BRASÍLIA/DF
AGOSTO/2020

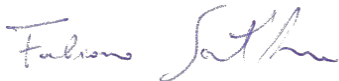
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

PREVALÊNCIA DA BRUCELOSE BUBALINA
NO DISTRITO FEDERAL (2020)

VINÍCIUS EUSTÁQUIO BARRETO CAMPOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL,
COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO
GRAU DE MESTRE EM SAÚDE
ANIMAL

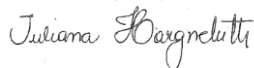
APROVADA POR:



FABIANO JOSÉ FERREIRA DE SANT'ANA, Doutor (Universidade de Brasília)
(ORIENTADOR)



JOSÉ RENATO JUNQUEIRA BORGES, Doutor (Universidade de Brasília)
(EXAMINADOR INTERNO)



JULIANA FELIPETTO CARGNELUTTI, Doutora (Universidade Federal de Santa Maria)
(EXAMINADORA EXTERNA)

BRASÍLIA, 28 DE AGOSTO DE 2020

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

CAMPOS, V. E. B. **Prevalência da brucelose bubalina no Distrito Federal (2020)**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2020, 50 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de Mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos; foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

CC198p Campos, Vinicius Eustáquio Barreto
Prevalência da brucelose bubalina no Distrito Federal
(2020). / Vinicius Eustáquio Barreto Campos; orientador
Fabiano José Ferreira de Sant'Ana . -- Brasília, 2020.
50 p.

Dissertação (Mestrado - Mestrado em Saúde Animal) --
Universidade de Brasília, 2020.

1. búfalo. 2. Brucella abortus. 3. epidemiologia. 4.
prevalência. 5. Distrito Federal. I. Sant'Ana , Fabiano José
Ferreira de, orient. II. Título.

Às maiores bênçãos que já recebi de Deus

Ingrid, Leon e Amália

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à Deus por proporcionar mais uma conquista em minha vida profissional.

À minha esposa Ingrid, por ser cúmplice de toda a minha caminhada, no momento em que ela mais precisava de mim para cuidar de nossos dois bebês, ofereceu suporte incondicional para concluir o estudo.

Aos meus filhos, por todo o amor, por toda a transformação na minha vida, por enxergar neles a fonte de determinação que eu precisava. Certamente sem o nascimento de Leon e Amália eu não teria concluído o trabalho.

Aos meus familiares, irmãos e noras, especialmente aos meus amados pais, Eustáquio e Angela, por todo o investimento e atenção dada para meus estudos.

Ao professor Fabiano, por identificá-lo como um exemplo de orientador, sempre tratando as demandas com muita polidez e humildade. Muito obrigado pela oportunidade.

Ao professor Dr. Vitor e a Dra. Ana Lourdes, pelos anos de parceria com a Seagri-DF, partícipes do reconhecimento da instituição através de estudos técnicos de referência.

E de forma muito especial, a todos os servidores da Diretoria de Sanidade Agropecuária e Fiscalização da Seagri-DF, logicamente estendendo à instituição, os meus sinceros relatos de estima e orgulho de fazer parte de uma equipe considerada referência na Defesa Agropecuária do país.

RESUMO

Brucelose é uma zoonose infectocontagiosa, causada por bactérias do gênero *Brucella* spp., que acomete várias espécies domésticas e que traz prejuízos econômicos aos pecuaristas por depreciar os índices zootécnicos reprodutivos, além de ser um problema à saúde pública. A Secretaria de Agricultura do Distrito Federal conduziu um estudo transversal censitário a fim de obter a prevalência aparente da brucelose bubalina, estabelecer o perfil da produção e buscar a associação da ocorrência da doença com fatores de risco. Foram visitadas 17 propriedades, coletadas 417 amostras de sangue de todos os machos acima de 8 meses e fêmeas acima de 24 meses, e por último, aplicados questionários para caracterização do perfil do produtor. Os soros sanguíneos foram submetidos ao teste do Antígeno Acidificado Tamponado – ATT, como teste de triagem e ao 2-Mercaptoetanol, como confirmatório. A prevalência aparente de animais foi de 0,71% (3/417), enquanto a de focos 17,65% (3/17). Segundo as análises estatísticas, não houve fatores de risco associados a ocorrência da doença. A característica de explorar a produção de leite esteve presente em todas as três propriedades positivas, além de duas serem as de maior tamanho e as que mais movimentam animais. Diante de prevalências muito baixas, o serviço veterinário oficial deve reconsiderar a estratégia de controle, haja vista que a vacinação não diminuirá mais a prevalência. A vigilância ativa associada ao saneamento das propriedades, o incentivo para a certificação de propriedades livres e o investimento em educação sanitária parecem ser as melhores ferramentas disponíveis para a situação atual da brucelose bubalina no Distrito Federal.

Palavras-chave: búfalo, *Brucella abortus*, epidemiologia, prevalência, Distrito Federal.

ABSTRACT

Brucellosis is an infectious disease, caused by a bacteria of the genus *Brucella* spp., which affects various domestic species. The disease causes economic losses to livestock farmers by depreciating reproductive and zootechnical indexes, besides being a problem for public health. The State Department of Agriculture of Distrito Federal, Brazil, carried out a cross-sectional census study to obtain the apparent prevalence of brucellosis in buffaloes, establish the production profile and seek the association between the disease and possible risk factors. This study was conducted on all 17 farms officially registered and 417 blood samples were collected from males aged over 8 months and females over 24 months. A survey was applied to characterize the farmers profile. Samples were screened to the buffered acidified plate agglutination test (BAPAT), as a screening test and to 2-mercaptoethanol test, as confirmatory. The apparent animal prevalence was 0.71%, while herd level prevalence was 17.65%. According to qui-square test, there were no risk factors associated with the occurrence of brucellosis. An analysis of the exploratory data indicated that all positive farms were characterized as dairy farms and the majority were classified as large herd and had higher frequency of animal trade. When analyzing the low prevalence of brucellosis in Distrito Federal, the official veterinary service must reconsider the control strategy, being vaccination an inefficient method to reduce the actual scenario. The main strategies towards eradication brucellosis in buffaloes of Distrito Federal needs to focus on actions to increase the active surveillance associated with test-and-cull protocol, incentive for certified free properties of brucellosis and the investment in sanitary education.

Keywords: buffaloes, *Brucella abortus*, epidemiology, prevalence, Distrito Federal.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Composição das perdas econômicas devido à brucelose bovina nas Unidades Federativas brasileiras (ADAPTADO).	6
Figura 2. Dispersão geográfica das propriedades positivas e negativas para brucelose bubalina no Distrito Federal.....	23
Figura 3. Representação do tipo Boxplot sobre o tamanho do rebanho bubalino no Distrito Federal.....	24
Figura 4. Representação do tipo Boxplot sobre a idade dos 417 búfalos envolvidos nesse estudo	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número e prevalências de propriedades e búfalos positivos para brucelose no Distrito Federal.....	22
Tabela 2. Distribuição de búfalos e propriedades testados para brucelose nos testes de Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e 2-mercaptoetanol (2-ME) no Distrito Federal. ..	22
Tabela 3. Frequência de raças de bubalinos no Distrito Federal.....	24
Tabela 4. Frequência do tipo de exploração de bubalinos no Distrito Federal.	25
Tabela 5. Frequência do tipo de criação de bubalinos no Distrito Federal.	25
Tabela 6 - Frequência dos tipos de ordenha realizadas nas propriedades de búfalos no Distrito Federal.....	25
Tabela 7. Frequência de variáveis relacionadas à origem e aquisição de búfalos no Distrito Federal.....	26
Tabela 8. Frequência de variáveis relacionadas a compartilhamentos entre fazendas de búfalos no Distrito Federal.....	27
Tabela 9. Frequência do teste de brucelose em propriedades de búfalos no Distrito Federal.	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TAL – teste do anel em leite

2-ME – teste do 2-Mercaptoetanol

AAT – teste do antígeno acidificado tamponado

DF – Distrito Federal

FC – teste de fixação de complemento

FPA – teste de polarização fluorescente

Mapa – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

OIE – Organização Mundial para Saúde Animal (tradução)

PNCEBT – Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal

Seagri – Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	1
REFERENCIAL TEÓRICO.....	1
HISTÓRICO	1
BRUCELOSE ANIMAL	1
ETIOLOGIA	2
SAÚDE PÚBLICA	4
IMPACTOS ECONÔMICOS.....	5
PROGRAMAS DE CONTROLE E ERRADICAÇÃO.....	6
BUBALINOCULTURA BRASILEIRA	8
EPIDEMIOLOGIA DA BRUCELOSE BUBALINA NO BRASIL	9
OBJETIVOS.....	12
OBJETIVO GERAL:	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
CAPÍTULO II	18
INTRODUÇÃO.....	18
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
RESULTADOS	22
DISCUSSÃO.....	28
ANEXO I – QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO.....	36

CAPÍTULO I REFERENCIAL TEÓRICO

HISTÓRICO

Em 1884, o capitão David Bruce foi enviado a Malta para descobrir o agente etiológico causador da Febre de Malta, doença que estava hospitalizando militares da marinha do Reino Unido. Durante o estudo, foi associada à doença o consumo de leite de cabra que foi ratificada devido ao isolamento do micro-organismo *Micrococos melitensis* a partir do pulmão de um soldado (VASSALLO, 1992). Em 1905, durante a Comissão da Febre do Mediterrâneo, Bruce e integrantes se convenceram que a doença era transmitida por insetos pois ela coexistia com a malária. Themistocles Zammit, um físico maltês membro da comissão, detectou anticorpos contra o microrganismo em mais de 50% do rebanho caprino, além de ter isolado a bactéria em 10% do rebanho testado, a partir de amostras de sangue e leite. No mesmo ano, o gênero foi alterado para *Brucella* (VASSALLO, 1992; NICOLETTI, 2002).

BRUCELOSE ANIMAL

A brucelose é uma doença bacteriana causada por micro-organismos do gênero *Brucella* spp. acometendo várias espécies de animais e causando importante impacto negativo nos índices zootécnicos reprodutivos (SPICKLER, 2018). Nos animais, a doença se apresenta em curso sub-agudo a crônico e a infecção tem a sua maior relevância no trato reprodutivo, especialmente nas fêmeas prenhes durante o terço final da gestação, causando placentite, abortos, diminuição da fertilidade, natimortos e redução na produção de leite. Nos machos, observa-se a ocorrência de orquite e epididimite (CORBEL, 2006).

A doença possui uma ampla distribuição geográfica apresentando alta incidência no Oriente Médio, África subsaariana, região mediterrânea, Peru, México, China e Índia. Atualmente, países localizados na região central e sudoeste da Ásia convivem com um incremento na incidência da doença (OIE, 2020).

A espécie bubalina é de relevante interesse pecuário pois se constitui em importante fonte de carne, leite e derivados de alta qualidade nutricional, produção de couro e ótima performance como animal para tração, além de se destacar pela adaptação à topografia e ao clima (VILLANUEVA et al., 2018). Por outro lado, o hábito de banhar-se e de pastorear em áreas alagadiças associado ao padrão extensivo de criação possibilita exposição direta a algumas infecções, incluindo a brucelose (NARDI JÚNIOR et al., 2012b).

ETIOLOGIA

Brucella spp. é um cocobacilo gram-negativo, aeróbio, não fermentador de carboidratos, não encapsulado e imóvel. Esta bactéria caracteriza-se pelo crescimento lento em meio de cultura apresentando colônias lisas, translúcidas e homogêneas ou rugosas, opacas, granuladas e viscosas (LIU, 2015; TUON et al., 2017). Ainda é classificada como intracelular facultativa, tornando-a capaz de evadir dos mecanismos de defesa inata e alcançar locais de replicação intracelular compostos por vesículas oriundas do retículo endoplasmático (CELLI, 2015). No gênero *Brucella*, recentemente, foram reconhecidas onze espécies diferentes e suas respectivas predileções por hospedeiros específicos: *B. abortus* (bovinos e bubalinos), *B. melitensis* (ovinos e caprinos), *B. ovis* (ovinos), *B. suis* (suínos), *B. canis* (cães), *B. ceti* e *B. pinnipedialis* (mamíferos marinhos), *B. inopinata* (humanos), *B. microti* (roedores), *B. neotomae* (rato do deserto), *B. vulpis* (raposa) e *B. papionis* (babuínos) (SOLER-LLORÉNS et al., 2016). As três espécies principais, também denominadas clássicas, são subdivididas em biovariedades ou

biovars: *B. abortus* – 7 biovars; *B. melitensis* – 3 biovars; *B. suis* – 5 biovars (BRASIL, 2006).

Dependendo das condições de temperatura, umidade e pH, a *Brucella* sp. pode permanecer ativa no ambiente por muitos meses, principalmente em materiais como pó, esterco, água, chorume de estrume, fetos abortados, solo, carne e produtos lácteos (SPICKLER, 2018). Em contrapartida, a bactéria é suscetível ao tratamento pelo calor, luz solar direta e desinfetantes, em especial as soluções de hipoclorito de sódio, álcool 70%, isopropanol, iodóforos, compostos fenólicos, formaldeídos, glutaraldeídos e xilenos (PAPPAS et al., 2005; PUBLIC HEALTH AGENCY OF CANADA, 2011).

A bactéria pode entrar no organismo por meio da mucosa digestiva, genital, conjuntival ou nasal, como também pelas lesões na pele (POESTER et al., 2013). Dentre as portas de entrada destaca-se a mucosa orofaríngea possibilitando o acesso ao trato digestório e seus linfonodos associados, permitindo a fagocitose por macrófagos e a consequente latência por vários meses (ARELLANO-REYNOSO et al., 2005). Em geral, a infecção se inicia quando o animal suscetível ingere água e alimentos contaminados ou pelo hábito de lamber as crias recém nascidas. O período de incubação pode ser de poucas semanas e até mesmo de meses ou anos. Isto ocorre pois geralmente a doença é assintomática em fêmeas não prenhes permanecendo latente até alcançar o período reprodutivo (APARICIO, 2013). Já nas fêmeas prenhes o período de incubação é inversamente proporcional ao tempo de gestação, isto é, quanto mais adiantada a gestação, menor será o período de incubação (BRASIL, 2006). Os linfonodos, baço, fígado, aparelho reprodutor masculino, útero e úbere de animais infectados são os órgãos que possuem maior probabilidade de acometimento pelo agente (ADAMS, 2002). Como vias de eliminação, destacam-se os fluidos e anexos fetais, leite e sêmen. A fonte de infecção mais importante é por pastagens, água, alimentos e fômites contaminados com conteúdo de abortos ou excreções (BRASIL, 2006). A transmissão pelo coito por meio do sêmen contaminado é considerada

irrelevante, pois na vagina há defesas inespecíficas que debelam a infecção. Entretanto, a inseminação artificial representa maior risco de transmissão pois o sêmen é introduzido diretamente no útero (APARICIO, 2013).

As bezerras tornam-se persistentemente infectadas quando a contaminação ocorrer no útero e assim, demonstrarão a positividade, após o início da prenhez, no decorrer da gestação. Essa situação retarda o avanço nos programas de controle e erradicação implantados no país (BRASIL, 2006).

SAÚDE PÚBLICA

A brucelose é uma das principais zoonoses de distribuição mundial, mas figura como uma das mais negligenciadas pela saúde pública (CORBEL, 2006). Aproximadamente 500.000 novos casos humanos são reportados anualmente, contudo estima-se que pode chegar até 12.500.000 casos anuais (HULL; SCHUMAKER, 2018). A doença causa sérios problemas à saúde, possuindo sintomas inespecíficos e pode ser confundida com outras afecções como febre tifóide, febre reumática, malária e artroses (ABDELHADY et al., 2017; PAPPAS et al., 2006). Além disso, a doença está associada a risco ocupacional, por acometer principalmente fazendeiros, veterinários e operários da indústria de alimentos, reduzindo a capacidade laboral desses trabalhadores (CORBEL, 2006). A doença pode ser transmitida pelo contato com tecidos, sangue, urina, secreções vaginais, fetos abortados ou pelo consumo de leite cru ou produtos de leite não pasteurizado de animais infectados (NIELSEN; DUNCAN, 1990).

Os sinais clínicos mais comuns incluem febre alta, incluindo a síndrome da febre indolente, dores de cabeça, dores musculares, sudorese noturna, astenia e depressão (MORENO, 2014). O tratamento com antibiótico, frequentemente, requer hospitalização e pode durar até seis semanas. Caso o paciente decida pelo não tratamento, consequentemente,

complicações como neurobrucelose e endocardite poderão se estabelecer (SOLER-LLORÉNS et al., 2016). Desde o ano de 1986, a Organização Mundial de Saúde recomenda o tratamento usando doxiciclina por seis semanas associada a estreptomicina ou a rifampicina, sendo a primeira molécula considerada de eleição (FAO; WHO, 1985; COLMENERO CASTILLO et al., 1989).

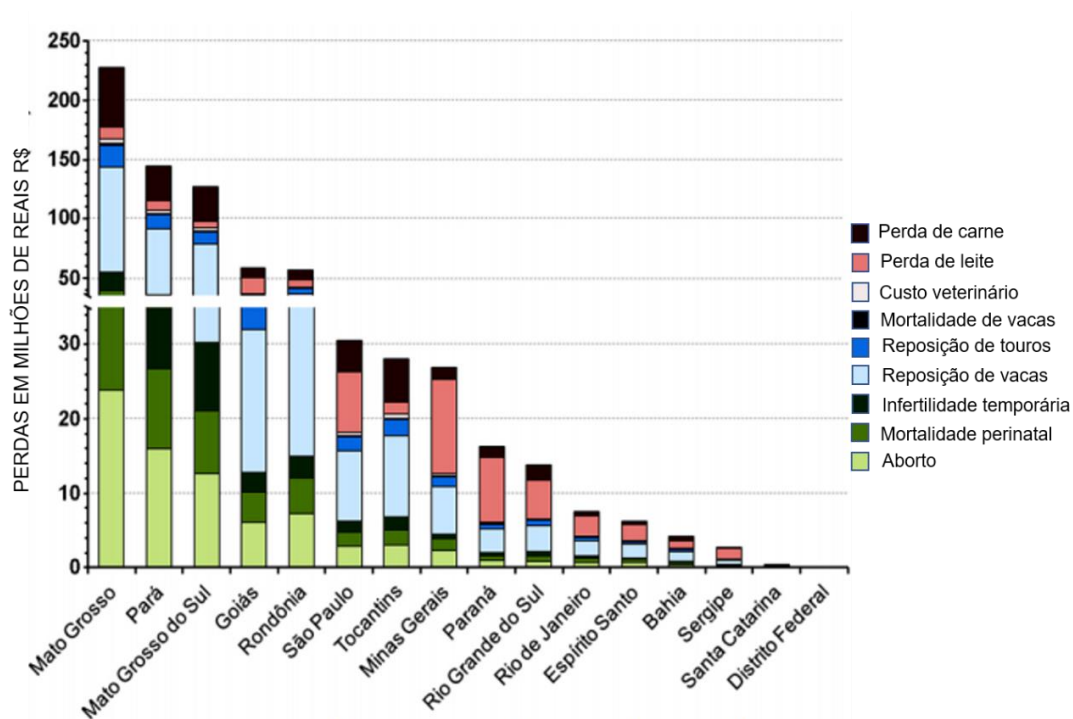
IMPACTOS ECONÔMICOS

A brucelose caracteriza-se por ser uma doença que acarreta graves transtornos econômicos atribuíveis aos homens, ao gado e à vida selvagem. Nas criações de países de primeiro mundo ela foi controlada e erradicada na pecuária, exceto nos animais selvagens que ainda se constituem como reservatórios do agente. Já nos países emergentes, expressiva quantidade de focos é comumente descrita e seus impactos econômicos dependem da forma de criação, manejo e dos sistemas de saúde pública e animal. De outro modo, em países de terceiro mundo, a doença é considerada endêmica com encargos econômicos para a pecuária de subsistência e para as pessoas, devido a inexistência ou ineficiência dos programas de controle implantados (MANGEN; PFEIFFER; CHILONDA, 2002; MCDERMOTT; ARIMI, 2002; PERRY, 2002).

O Banco Mundial, por meio do Atlas Mundial de Doenças na Pecuária, classificou a brucelose como a doença de maior impacto econômico nos bubalinos, considerando o período de 2006 a 2009 (WORLD BANK; TAFS FORUM, 2011). Os estudos sobre o impacto econômico causado pela brucelose na espécie bubalina são raros, especialmente no Brasil. Entretanto, em relação aos bovinos estima-se que a cada 1% de variação na prevalência representa um impacto econômico negativo de 155 milhões de reais. Em 2011, levando em consideração índices como ocorrências de abortos, natimortos, subfertilidade, descartes

involuntários, mortalidade, intervenções veterinárias, diminuição da produção de leite e de carne, o prejuízo estimado alcançou 892 milhões de reais (SANTOS et al., 2013). Na Fig. 1, pode ser observada a participação de cada fator em relação a perda econômica por estado. Nos estados que possuem aptidão para leite e carne o maior impacto foi observado na perda do leite e no aborto, respectivamente. Estima-se que há uma redução de 25% na produção de leite e carne e de 15% no nascimento de bezerros. Sugere-se ainda que a cada cinco vacas infectadas, uma aborta ou torna-se estéril (BRASIL, 2006).

Figura 1- Composição das perdas econômicas devido à brucelose bovina nas Unidades Federativas brasileiras (ADAPTADO).



Fonte: SANTOS et al., 2013.

PROGRAMAS DE CONTROLE E ERRADICAÇÃO

Embora existam estratégias definidas para a erradicação da brucelose em vários países, inclusive no Brasil, a infecção latente, a proteção incompleta conferida pela vacinação, o período de incubação prolongado e a complexidade na distinção sorológica entre animais

vacinados e naturalmente infectados limita a eficácia dos programas (BORRIELLO et al., 2006). Dentre as estratégias destacam-se a vacinação, a certificação de propriedades livres, o controle de movimentação de animais, a adoção de testes sorológicos e o abate sanitário de animais positivos (POESTER et al., 2009; BORRIELLO et al., 2013).

A vacinação é uma importante ferramenta para o controle da doença haja visto o seu papel na prevenção do aborto e, conseqüentemente, na redução da contaminação do pasto. A vacina RB 51 é utilizada em alguns países, mas a B19 é a mais utilizada em todo o mundo (NARDI JÚNIOR et al., 2012a).

No Brasil, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, é obrigatória a vacinação de todas as fêmeas das espécies bovina e bubalina, na faixa etária de três a oito meses, utilizando-se dose única de vacina viva liofilizada, elaborada com amostra 19 de *B. abortus* (B19) (BRASIL, 2017). Entretanto a legislação prevê a possibilidade de substituição pela vacina não indutora da formação de anticorpos aglutinantes, a RB51, especialmente após a faixa etária de três a oito meses, na espécie bovina. Tal recomendação não se justifica para bubalinos pois, segundo os estudos de Longo et al. (2009), foi isolada *B. abortus* rugosa cepa RB51, a partir do leite de vacas vacinadas durante a fase adulta. Além disso, também foi demonstrado que a vacina RB 51 falhou em proteger búfalos a partir da aplicação da dose padrão utilizada para vacinação em bovinos (FOSGATE et al., 2003).

Em relação ao diagnóstico laboratorial, os métodos diretos preconizados são o isolamento e a identificação do agente etiológico a partir do material suspeito, por exemplo placenta, exsudatos vaginais, leite e tecidos de fetos abortados. O isolamento consiste no método padrão ouro para detecção do agente, contudo a coleta e a conservação dos materiais biológicos são mais laboriosos (ALMEIDA; SOARES; ARAÚJO, 2004; MOL et al., 2012). Descargas bacterianas com pequena quantidade de agente podem resultar em testes falsos negativos (VILLANUEVA et al., 2018). Por outro lado, os métodos indiretos consistem na

detecção de anticorpos no soro sanguíneo, leite e plasma seminal. Os métodos disponíveis no Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT) incluem o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) (como rotina), o teste do Anel em Leite (TAL) (para monitoramento de estabelecimentos), e os testes confirmatórios do 2-Mercaptoetanol (2-ME), de Polarização Fluorescente (FPA) e o de Fixação do Complemento (BRASIL, 2017). Segundo Molnár et al. (2002), os métodos sorológicos são as principais ferramentas para dar suporte aos programas de controle e erradicação de doenças, por serem de rápida execução e por apresentarem sensibilidade e especificidade diagnóstica seguras para os programas de controle de brucelose.

Os animais reagentes positivos deverão ser marcados pelo médico veterinário responsável pelo exame, a ferro candente ou nitrogênio líquido, no lado direito da cara com um "P" e deverão ser isolados do rebanho, afastados da produção leiteira e abatidos no prazo máximo de 30 dias após o diagnóstico, em estabelecimento sob serviço de inspeção oficial (BRASIL, 2017).

Segundo dados da OIE, existem muitos casos de animais silvestres infectados por brucelose, principalmente por *B. suis* e *B. melitensis*, mas também há casos de *B. abortus* em animais de vida livre em vários países do mundo. O papel desses animais ainda carece de estudos, o que pode gerar insucesso nos programas de erradicação implantados nos países (GODFROID et al., 2013a; ZINSSTAG et al., 2015).

BUBALINOCULTURA BRASILEIRA

O búfalo é um animal de tripla aptidão: carne, leite e energia. A sua elevada rusticidade foi preponderante na adaptação da espécie a variadas condições edafoclimáticas e de manejo no Brasil (PEREIRA et al., 2007). Segundo Lourenço Júnior e Garcia (2008), os bubalinos

também apresentam vantagens econômicas devido a fertilidade, longevidade, eficiência de conversão alimentar e aptidão para produção de leite, carne e trabalho.

O primeiro relato da introdução de búfalos no Brasil data de 1890 na ilha do Marajó, Pará. Segundo a Associação Brasileira de Criadores de Búfalo, estão presentes no território brasileiro as raças Mediterrânea, Murrah, Jafarabadi e Carabao (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE BÚFALO, 2011). Estima-se que a população bubalina da América do Sul seja de cerca de 3.800.000 cabeças, das quais 3.500.000 encontram-se no Brasil (PAULIN; NETO, 2008). De acordo com dados da Coordenação de Brucelose e Tuberculose Bovina do Distrito Federal (SEAGRI-DF, 2020) existem cerca de 582 búfalos distribuídos em 17 propriedades e a grande maioria delas são de subsistência, mas cerca de 94% do rebanho é usado para fins comerciais.

EPIDEMIOLOGIA DA BRUCELOSE BUBALINA NO BRASIL

Em 1969, registrou-se o primeiro relato de brucelose em búfalos no Brasil a partir de soros sanguíneos (SANTA ROSA; CASTRO; TROISE, 1969); contudo o primeiro isolamento ocorreu a partir do conteúdo de um higroma articular (OGASSAWARA et al., 1969). Em Goiás, a prevalência da brucelose bubalina foi estimada em 17,3% por Da Costa, Cury, e Rocha (1973). No estado do Pará, o maior produtor da espécie, Lau e Singh (1986) estimou 5,7%, 8 % e 12,2% nas regiões de Belém, Baixa Amazônia e ilha de Marajó, respectivamente. Na mesma ilha em 2011, um estudo envolvendo 3.917 búfalas apresentou prevalência de 4,59% utilizando o teste do 2-ME (DA SILVA et al., 2014). Posteriormente, no município paraense de Santarém em 2019, 426 búfalos foram amostrados e 29 testaram positivos para a doença alcançando a prevalência de 6,8% em animais e 30% em rebanhos (BATISTA et al., 2019). Outros inquéritos sorológicos foram conduzidos no Brasil: em São Paulo, a prevalências encontradas foram de

40,9% (SANTA ROSA et al., 1961), 5,69% (SANDOVAL et al., 1979); 21,92% entre 1977 e 1987 (FEITOSA; BITTAR; GOMES, 1991) e na região do vale do Ribeira, 477 soros foram examinados e 51 testaram positivo no ELISA competitivo (MATHIAS et al., 1998). Em Minas Gerais, na região do Alto São Francisco foi observada a prevalência de 37,5% em 2005 (BASTIANETTO et al., 2005), enquanto que no Maranhão, um inquérito sorológico estimou a prevalência de 4,1% (SANTOS et al., 2017). Segundo o Quadro 1, pode ser observado a distribuição cronológica dos estudos epidemiológicos no Brasil e suas respectivas fontes.

Quadro 1 - Estudos epidemiológicos sobre a brucelose bubalina no Brasil.

Estado	Fonte	Prevalência de animais
SP	SANTA ROSA; CASTRO; TROISE, 1969	40,9%
GO	DA COSTA, CURY, E ROCHA (1973)	17,3%
SP	SANDOVAL et al., 1979	5,69%
PA	LAU E SINGH (1986)	5,7%; 8% e 12,2%
SP	FEITOSA; BITTAR; GOMES, 1991	21,92%
SP	MATHIAS et al., 1998	10,7%
MG	BASTIANETTO et al., 2005	37,5%
PA	DA SILVA et al., 2014	4,59%
MA	SANTOS et al., 2017	4,1%
PA	BATISTA et al., 2019	6,8%

Apesar dos estudos mencionados anteriormente, informações concretas e oficiais acerca da prevalência e distribuição regional da doença em búfalos são muito escassas em muitas regiões no Brasil, incluindo o Distrito Federal (DA SILVA et al., 2014).

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL:

Caracterizar a situação epidemiológica da brucelose bubalina no Distrito Federal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar a prevalência de focos de brucelose bubalina no Distrito Federal;
2. Determinar a prevalência de brucelose bubalina em fêmeas em idade reprodutiva e em machos acima de 8 meses no Distrito Federal;
3. Analisar possíveis associações entre diversas variáveis produtivas e sanitárias em relação a presença da doença nos rebanhos bubalinos do Distrito Federal;
4. Sugerir subsídios para a adequação e melhoria do programa de brucelose bubalina no Distrito Federal;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELHADY, R. et al. Prevalence of Brucellosis among Febrile Negative Malaria Patients by PCR in Northern Kordofan State, Sudan. **Clinical Microbiology: Open Access**, v. 06, n. 04, 2017.
- ADAMS, L. G. The pathology of brucellosis reflects the outcome of the battle between the host genome and the Brucella genome. **Veterinary Microbiology**, v. 90, n. 1–4, p. 553–561, dez. 2002.
- ALMEIDA, R. F. C.; SOARES, C. O.; ARAÚJO, F. R. DE. **Brucelose e tuberculose bovina: epidemiologia, controle e diagnóstico**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004.
- APARICIO, D. D. Epidemiology of brucellosis in domestic animals caused by *Brucella melitensis*, *Brucella suis* and *Brucella abortus*. **Revue Scientifique et Technique de l'OIE**, v. 32, n. 1, p. 53–60, 1 abr. 2013.
- ARELLANO-REYNOSO, B. et al. Cyclic β -1,2-glucan is a brucella virulence factor required for intracellular survival. **Nature Immunology**, v. 6, n. 6, p. 618–625, jun. 2005.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE BÚFALO. **O Búfalo**, 2011. Disponível em: <<https://www.bufalo.com.br/home/o-bufalo/>>. Acesso em: 6 maio 2020, 01:30
- BASTIANETTO, E. et al. Brucelose em rebanhos de búfalos criados na região do Alto São Francisco - Minas Gerais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 29, n. 1, p. 55–56, mar. 2005.
- BATISTA, H. et al. Factors associated with the prevalence of antibodies against *Brucella abortus* in water buffaloes from Santarém, Lower Amazon region, Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, p. 1-5, 24 jun. 2019.
- BORRIELLO, G. et al. Genetic Resistance to *Brucella abortus* in the Water Buffalo (*Bubalus bubalis*). **Infection and Immunity**, v. 74, n. 4, p. 2115–2120, 1 abr. 2006.
- BORRIELLO, G. et al. Link between Geographical Origin and Occurrence of *Brucella abortus* Biovars in Cow and Water Buffalo Herds. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 3, p. 1039–1043, 1 fev. 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT): Manual Técnico**. Brasília, DF, 2006. 188 p.
- BRASIL. Instrução Normativa nº10, de 3 de março de 2017 - Fica estabelecido o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT e a Classificação das Unidades da Federação de acordo com o grau de risco para as doenças brucelose e tuberculose, assim como a definição de procedimentos de defesa sanitária animal a serem adotados de acordo com a classificação. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 20 jun. 2017. Seção 1, p. 4.

- CELLI, J. The changing nature of the Brucella-Containing Vacuole. **Cellular microbiology**, v. 17, n. 7, p. 951–958, jul. 2015.
- COLMENERO CASTILLO, J. D. et al. Comparative trial of doxycycline plus streptomycin versus doxycycline plus rifampin for the therapy of human brucellosis. **Chemotherapy**, v. 35, n. 2, p. 146–152, 1989.
- CORBEL, M. J. et al. **Brucellosis in humans and animals**. Geneva, Suíça: World Health Organization, 2006. 102 p.
- DA COSTA, E. O.; CURY, R. S.; ROCHA, U. F. Sobre a ocorrência da brucelose em búfalos *Bubalus bubalis* (Lineaeus, 1958) no estado de Goiás - Inquérito Sorológico. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 39, p. 162–164, 1973.
- DA SILVA, J. B. et al. Serological survey and risk factors for brucellosis in water buffaloes in the state of Pará, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 46, n. 2, p. 385–389, fev. 2014.
- FAO; WHO. **Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis: sixth report**. Geneva: World Health Organization, 1985.
- FEITOSA, M. H.; BITTAR, C. R.; GOMES, S. P. Brucelose: levantamento sorológico no Estado de São Paulo no período de 1977 a 1987. **Veterinária e Zootecnia**, v. 3, p. 9–15, 1991.
- FOSGATE, G. T. et al. Evaluation of brucellosis RB51 vaccine for domestic water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Trinidad. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 58, n. 3–4, p. 211–225, maio 2003.
- GODFROID, J. et al. Brucellosis in terrestrial wildlife. **Rev. Sci. Tech. Off. In. Epiz.**, v. 32, p. 27-42, abr. 2013.
- HULL, N. C.; SCHUMAKER, B. A. Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. **Infection Ecology & Epidemiology**, v. 8, n. 1, p. 1500846, 1 jan. 2018.
- LAU, H. D.; SINGH, N. P. Distribuição e prevalência da brucelose em búfalos no Estado do Pará. **Infoteca da Embrapa**, 15 p., 1986.
- LIU, D. Chapter 101 - Brucella. In: TANG, Y.; SUSSMAN, M.; LIU, D.; POXTON, I.; SCHWARTZMAN, J. (Ed.). **Molecular Medical Microbiology**. Boston: Academic Press, 2015. p. 1781–1788.
- LONGO, M. et al. Shedding of Brucella abortus rough mutant strain RB51 in milk of water buffalo (*Bubalus bubalis*). **Preventive Veterinary Medicine**, v. 90, n. 1, p. 113–118, 1 jul. 2009.
- LOURENÇO JÚNIOR, J. DE B.; GARCIA, A. R. Panorama da bubalinocultura na Amazônia. In: Encontro Internacional da Pecuária da Amazônia, 2008, Belém, Pará. **Repositório Alice - Acesso Livre à Informação Científica da Embrapa**. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/409969>>. Acesso em: 6 maio 2020.
- MANGEN, M. J.; PFEIFFER, D.; CHILONDA, P. **Bovine brucellosis in Sub-Saharan Africa**: Estimation of sero-prevalence and impact on meat and milk offtake potentiala. Roma, Itália: Food and Agriculture Organization, 2002. 58 p.

- MATHIAS, L. A. et al. Avaliação de um teste imunoenzimático competitivo no diagnóstico sorológico da brucelose em búfalos (*Bubalus bubalis*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 18, n. 3–4, p. 111–114, jul. 1998.
- MCDERMOTT, J. J.; ARIMI, S. M. Brucellosis in sub-Saharan Africa: epidemiology, control and impact. **Veterinary Microbiology**, v. 90, n. 1–4, p. 111–134, 20 dez. 2002.
- MOL, J. P. DA S. et al. Laboratorial diagnosis of animal brucellosis. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 19, n. 3, p. 117–126, 2012.
- MOLNÁR, L. et al. Avaliação de seis testes sorológicos no diagnóstico da brucelose bubalina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 41–44, abr. 2002.
- MORENO, E. Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 213, 2014.
- NARDI JÚNIOR, G. N. et al. Serological profile of buffalo (*Bubalus bubalis*) female calves vaccinated with standard *Brucella abortus* strain 19 vaccine using rose bengal, 2-mercaptoethanol and complement fixation tests. **Biologicals**, v. 40, n. 2, p. 158–161, mar. 2012a.
- NARDI JÚNIOR, G. N. et al. **Brucelose em bubalinos**: uma revisão com ênfase ao sorodiagnóstico oficial. **Veterinaria e Zootecnia** v. 19, n. 2, p. 142-156, 1 jun. 2012b.
- NICOLETTI, P. A short history of brucellosis. **Veterinary Microbiology**, v. 90, n. 1, p. 5–9, 20 dez. 2002.
- NIELSEN, K.; DUNCAN, J. R. **Animal Brucellosis**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1990. 472 p.
- OGASSAWARA, S. R. et al. Higroma articular brucélico em búfalo, *Bubalus bubalis* (Linneu, 1758). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 36, p. 117–121, 1969.
- OIE. **Brucellosis**: OIE - World Organisation for Animal Health. Disponível em: <<https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/brucellosis/#G>>. Acesso em: 5 maio 2020.
- PAPPAS, G. et al. Brucellosis. **The New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 22, p. 2325–2336, 2 jun. 2005.
- PAPPAS, G. et al. The new global map of human brucellosis. **The Lancet. Infectious Diseases**, v. 6, n. 2, p. 91–99, fev. 2006.
- PAULIN, L. M. S.; NETO, J. S. F. Brucelose em búfalos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 3, p. 389–401, 2008.
- PEREIRA, R. G. DE A. P. et al. **Eficiência reprodutiva de búfalos**. EMBRAPA Rondônia, 2007. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/709601>>. Acesso em: 6 jun. 2020.
- PERRY, B. D. **Investing in Animal Health Research to Alleviate Poverty**. Nairobi, Kenia: International Livestock Research Institute, 2002. 144 p.

POESTER, F. et al. Estudos de prevalência da brucelose bovina no âmbito do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose: Introdução. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 01–05, nov. 2009.

POESTER, F. P.; SAMARTINO, L. E.; SANTOS, R. L. Pathogenesis and pathobiology of brucellosis in livestock. **Revue Scientifique et Technique de l'OIE**, v. 32, n. 1, p. 105–115, 1 abr. 2013.

PUBLIC HEALTH AGENCY OF CANADA. ***Brucella* spp. (*B. abortus*, *B. canis*, *B. melitensis*, *B. suis*) - Material Safety Data Sheets (MSDS)**. Education and awareness; guidance, 2011. Disponível em: <<https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment/brucella-b-abortus-b-canis-b-melitensis-b-suis-material-safety-data-sheets-msds.html>>. Acesso em: 5 maio 2020.

SANDOVAL, L. A. et al. Pesquisas em bubalinos: prevalência da brucelose e leptospirose no Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 45, n. 11, p. 209–212, 1979.

SANTA ROSA, C. A.; CASTRO, A. F. P.; TROISE, C. Títulos aglutinantes para “*Brucella*” em búfalos do Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 28, n. 1, p. 35–39, 1969.

SANTOS, R. L. et al. Economic losses due to bovine brucellosis in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 6, p. 759–764, jun. 2013.

SANTOS, L. et al. Detection of *Brucella* sp. infection through serological, microbiological, and molecular methods applied to buffaloes in Maranhão State, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 49, 18 fev. 2017.

SEAGRI-DF. **Relatório de exploração pecuária do Distrito Federal**. Brasília, DF: Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural, 2020. Acesso em: 7 maio 2020.

SOLER-LLORENS, P. F. et al. A *Brucella* spp. Isolate from a Pac-Man Frog (*Ceratophrys ornata*) Reveals Characteristics Departing from Classical Brucellae. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, n. 116, p. 1-16, 2016.

SPICKLER, A. R. **Brucellosis: *Brucella abortus***. Factsheet. 12 p., maio 2018. Disponível em: <<http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php>> Acesso em 20 março 2020.

TUON, F. F. et al. Guidelines for the management of human brucellosis in the State of Paraná, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 4, p. 458–464, ago. 2017.

VASSALLO, D. J. The corps disease: brucellosis and its historical association with the Royal Army Medical Corps. **Journal of the Royal Army Medical Corps**, v. 138, n. 3, p. 140–150, out. 1992.

VILLANUEVA, M. A. et al. **Emerging Infectious Diseases in Water Buffalo - An Economic and Public Health Concern**. Londres, Inglaterra: Intechopen, 2018. 55 p.

WORLD BANK; TAFS FORUM. **World Livestock Disease Atlas: A Quantitative Analysis of Global Animal Health Data (2006-2009)**. Washington, EUA.: World Bank, 2011. 104 p.

ZINSSTAG, J. et al. **One Health: The Theory and Practice of Integrated Health Approaches**. Londres, Inglaterra: CAB International, 2015. 455 p.

CAPÍTULO II
(escrito na forma de artigo para publicação)

**PREVALÊNCIA DA BRUCELOSE BUBALINA NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL
(2020)**

**V.E.B. Campos^{1,2}, D.N. Natividade^{1,2}, R.H. Defensor^{1,2}, V.S.P. Gonçalves³, A.L.A.A.
Mota³, P.M. Soares Filho⁴, F.J.F. Sant'Ana⁵**

1. Secretaria de Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural do Distrito Federal (SEAGRI), Subsecretaria de Defesa Agropecuária (DAS), Brasília, DF.
2. Programa de Pós-graduação em Saúde Animal, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF.
3. UnB, Laboratório de Epidemiologia Veterinária (EpiPlan), Brasília, DF.
4. Laboratório Federal de Defesa Agropecuária (LFDA), Pedro Leopoldo, MG.
5. UnB, Laboratório de Diagnóstico Patológico Veterinário, Brasília, DF.

Introdução

A brucelose é uma doença infectocontagiosa zoonótica causada por bactérias do gênero *Brucella* spp. que acomete várias espécies de animais, levando a infertilidade e abortos e, conseqüentemente, depreciando os índices zootécnicos reprodutivos (SPICKLER, 2018). As espécies *B. melitensis*, *B. abortus* e *B. suis* são altamente patogênicas e suas ocorrências são passíveis da adoção de medidas zoossanitárias pelos órgãos de defesa agropecuária (BRASIL, 2013).

A doença possui ampla distribuição geográfica acometendo rebanhos em vários continentes (OIE, 2020). Dentre as espécies animais susceptíveis, os bubalinos se destacam por algumas características inerentes da espécie, como o hábito de banhar-se e de pastorear em áreas alagadiças, além do padrão predominantemente extensivo de criação que facilita a exposição direta a bactéria (NARDI JÚNIOR et al., 2012). Um estudo que avaliou os impactos

econômicos decorrentes de diversas enfermidades considerou a brucelose como a doença que mais afeta economicamente a espécie bubalina no mundo (WORLD BANK; TAFS FORUM, 2011).

No Brasil, apesar da doença ser amplamente investigada em bovinos, os estudos realizados em búfalos, até o momento, são escassos e restritos a algumas regiões geográficas limitadas. Além disso, é importante destacar que muitos estudos foram conduzidos antes de 2001, ano da instituição do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal. Em Goiás, a prevalência da brucelose bubalina foi estimada em 17,3% (DA COSTA et al., 1973). Já no Estado do Pará, o maior produtor nacional, esses índices alcançaram 5,7%, 8% e 12,2% nas regiões de Belém, Baixa Amazônia e ilha de Marajó, respectivamente (LAU E SINGH, 1986). Estudos adicionais realizados na ilha de Marajó em 2011 e 2013 revelaram soropositividade a *B. abortus* de 4,6% e 4,59% dos búfalos amostrados, respectivamente (DA SILVA et al., 2014a). No município paraense de Santarém, uma investigação realizada em 2019 detectou a prevalência animal de 6,8% e de rebanhos de 30% (BATISTA et al., 2019). Além disso, prevalências de 37,5% e 4,1% foram confirmadas em rebanhos bubalinos na região do Alto São Francisco em Minas Gerais (BASTIANETTO et al., 2005) e no Maranhão (SANTOS et al., 2017), respectivamente.

Embora estudos epidemiológicos realizados em 2003 e 2015 tenham demonstrado prevalência animal de brucelose bovina no Distrito Federal (DF) de 0,16% (GONÇALVES et al., 2009) e 0,93% (LICURGO, 2016), e prevalência de focos de 2,5% (GONÇALVES et al., 2009) e 3,1% (LICURGO, 2016), inexistem informações concretas e oficiais acerca da prevalência e distribuição regional da doença em búfalos em muitas regiões no Brasil (DA SILVA et al., 2014a), incluindo o Distrito Federal.

O Distrito Federal é a menor unidade federativa do Brasil, possuindo 5.760,783 Km² de área, correspondendo a 0,6% do território nacional. Desde 2011, foi registrado aumento de 60% no efetivo do rebanho bubalino local, atingindo 582 animais em 2020 (IBGE, 2017; SEAGRI-DF, 2020).

Dados da Secretaria de Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural do Distrito Federal (SEAGRI-DF) demonstram que a cobertura vacinal da população bubalina local em 2019 foi de 33,7% em relação ao total de fêmeas e de 50% em relação às propriedades no período. Tendo em vista à escassez de estudos sobre o tema, a inexistência de dados oficiais no Distrito Federal, as baixas coberturas vacinais e à inexistência de certificação de propriedades livres, o presente trabalho objetiva determinar a prevalência da brucelose bubalina no Distrito Federal, bem como avaliar os principais fatores de risco associados à enfermidade.

Material e Métodos

Um estudo transversal censitário foi conduzido de agosto de 2019 até março de 2020 promovendo visitas técnicas a todas as propriedades de bubalinos no Distrito Federal. Foram coletadas 417 amostras de sangue envolvendo todos os machos acima de 8 meses e fêmeas acima de 24 meses. Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade de Brasília (UnB) sob o número 89/2019.

Em relação ao manejo dos animais, definiu-se como procedimento a condução tranquila do rebanho até o local de imobilização, sempre respeitando a característica gregária da espécie. A contenção física foi realizada com auxílio de cordas ou brete. A coleta da amostra sanguínea foi realizada por venopunção da jugular ou da artéria caudal. Após a coleta, as amostras foram dessoradas por meio de centrifugação a 5000 rpm por 5 minutos, aliqüotados em microtubos, identificados, acondicionados e congelados a -20°C. Posteriormente, foram remetidos ao

Laboratório Federal de Defesa Agropecuária (LFDA) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) em Pedro Leopoldo/MG, aonde seguiram o protocolo do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT). Primeiramente, foi utilizado o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), como triagem. As amostras positivas foram submetidas ao teste confirmatório do 2-Mercaptoetanol. Com isso, a propriedade foi classificada como positiva quando ao menos uma amostra reagiu positivamente no teste confirmatório.

Os cálculos de prevalência aparente em propriedades e animais seguiram o preconizado por Thrusfield (2004). Para o cálculo das prevalências de propriedades/foco e de animais para brucelose foram estabelecidas as equações P_1 e P_2 , respectivamente:

$$P_1 = \frac{\textit{n}^\circ \textit{ de propriedades positivas}}{\textit{n}^\circ \textit{ de propriedades existentes}}$$

$$P_2 = \frac{\textit{número de animais positivos}}{\textit{número de animais existentes na categoria}}$$

Simultaneamente, foi aplicado um questionário epidemiológico em cada fazenda (Anexo I). As informações foram colhidas pelo Google Formulários[®] utilizando tablets e os resultados analisados com auxílio do programa STATA 12[®] (STATACORP, 2011). Foram obtidas informações sobre as variáveis tipo de exploração, criação e práticas de manejo (especialmente em rebanhos leiteiros), número e raças de búfalos, produção leiteira diária, uso de inseminação artificial, presença de outros animais (domésticos e silvestres), assistência veterinária, compra e venda de animais, compartilhamento de itens ou funcionários, características físicas das

propriedades, diagnósticos prévios para brucelose, entre outras informações. A etapa exploratória dos dados consistiu em uma análise das variáveis por meio do teste do χ^2 , buscando estabelecer associação com a presença ou ausência da doença. As propriedades analisadas no estudo foram classificadas em pequenas (≤ 38 búfalos) ou grandes (≥ 39 búfalos).

Resultados

A prevalência aparente estimada de brucelose em búfalos no Distrito Federal foi de 0,52% (3/417), após confirmação no teste 2-ME. Já a prevalência de rebanhos foi de 17,65%, isto é, cada uma das três propriedades positivas teve um animal infectado (Tab. 1). Dos animais positivos na triagem, apenas 12% (3/25) foram testados como positivos no confirmatório (Tab. 2).

Tabela 1. Número e prevalências de propriedades e búfalos positivos para brucelose no Distrito Federal.

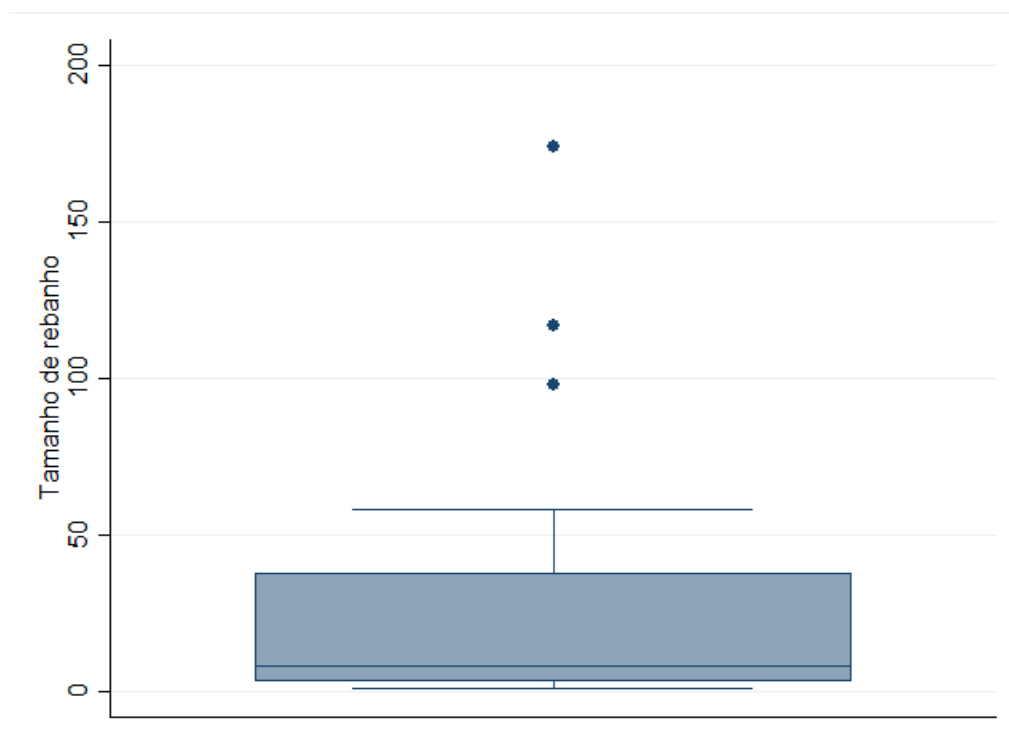
Resultado	Número de propriedades	Prevalência nas propriedades	Quantidade de búfalos	Prevalência em búfalos
Positivo	3	17,65%	3	0,51%
Negativo	14	82,35%	579	99,49%
Total	17	100	582	100

Tabela 2. Distribuição de búfalos e propriedades testados para brucelose nos testes de Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e 2-mercaptoetanol (2-ME) no Distrito Federal.

Resultado	AAT		2-ME	
	Animais	Propriedades	Animais	Propriedades
Positivo	25	9	3	3
Negativo	557	8	22	6
Total	582	17	25	9

melhor representa 50% do total de propriedades é a mediana de 8 animais, conforme representado na Figura 3.

Figura 3. Representação do tipo Boxplot sobre o tamanho do rebanho bubalino no Distrito Federal.



A principal raça criada na região foi a Murrah (70,6%), seguida da Jaffarabadi (17,6%) e Mediterrâneo (11,8%), conforme ilustra a Tab. 3.

Tabela 3. Frequência de raças de bubalinos no Distrito Federal.

Raças	Frequência	Porcentagem
Murrah	12	70,6%
Jaffarabadi	3	17,6%
Mediterrâneo	2	11,8%
Total	17	100,0%

Sobre a variável tipo de exploração, aproximadamente 47% das propriedades estão voltadas para a produção exclusiva de leite (Tab. 4). Quanto ao sistema de criação, o semi-intensivo foi notado em 94,12% das propriedades (Tab. 5).

Tabela 4. Frequência do tipo de exploração de bubalinos no Distrito Federal.

Tipo de exploração	Frequência	Porcentagem
Leite	8	47,1%
Mista	5	29,4%
Corte	4	23,5%
Total	17	100,0%

Tabela 5. Frequência do tipo de criação de bubalinos no Distrito Federal.

Tipo de criação	Frequência	Porcentagem
Semi-intensivo	16	94,1%
Intensivo	1	5,9%
Extensivo	0	0%
Total	17	100,0%

A variação de produção das propriedades registrou entre quatro e 300 litros de leite/dia com uma mediana de oito litros. A mediana encontrada para búfalas em lactação foi de três animais. Os resultados relativos às variáveis quantidade de fazendas que realizam ordenha e tipo de ordenha estão demonstrados na Tab. 6.

Tabela 6 - Frequência dos tipos de ordenha realizadas nas propriedades de búfalos no Distrito Federal

Variáveis	Quantidade de fazendas	Frequência
Ordenha	13	76,47%
manual	8	47,06%
mecânica ao pé	3	17,65%
mecânica em sala de ordenha	2	11,76%
Não ordenha	4	23,53%
Total	17	100,00%

A produção de queijo e manteiga era realizada em 70% (12/17) das propriedades, e em sete delas a produção era para consumo próprio. Dentre os produtores que entregam leite (5/17), dois entregavam direto ao consumidor e outros três aos laticínios. A utilização de tanques próprios para resfriamento do leite fez-se presente apenas em duas propriedades. Aproximadamente 30% dos estabelecimentos afirmaram consumir o leite cru. Sobre o manejo reprodutivo, apenas uma propriedade utilizava a inseminação artificial, enquanto as outras adotam a monta natural.

A criação de outras espécies domésticas criadas na propriedade foi comum, sobretudo de equinos, aves, suínos e felinos. Em cerca de 82% dos questionários identificou-se que as propriedades possuíam animais silvestres em seus territórios, especialmente cervídeos, capivaras, marsupiais, felídeos e primatas.

Oito proprietários (8/17) declararam que compraram búfalos nos últimos dois anos (Tab. 7). Nesse cenário, destaca-se que a aquisição ocorreu diretamente em outras fazendas ou por comerciantes. O quantitativo de animais que foram adquiridos variou de 1 a 112 cabeças. Em relação à venda de bubalinos nos últimos dois anos, destaca-se que 82% ou não realizaram a venda ou a fizeram com apenas um animal.

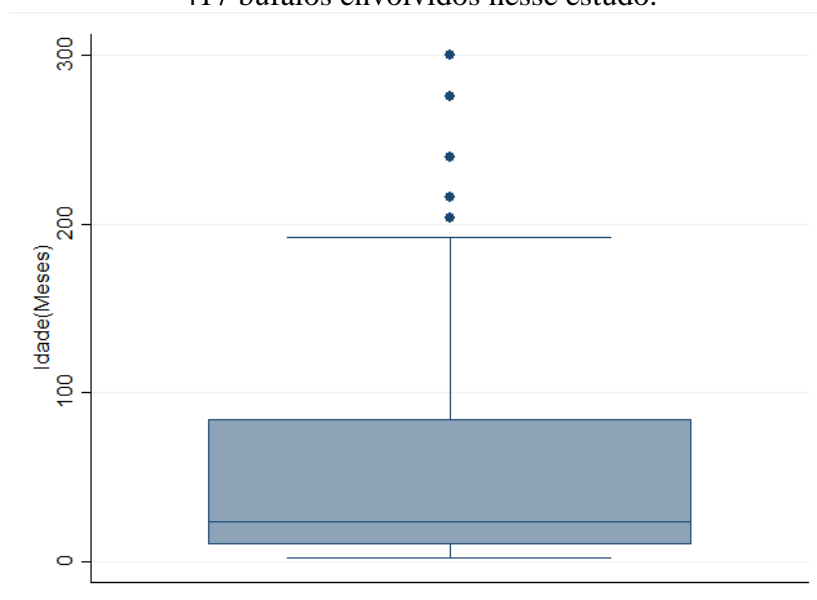
Tabela 7. Frequência de variáveis relacionadas à origem e aquisição de búfalos no Distrito Federal.

Respostas	Aquisição de animais	Origem da Aquisição			
		Exposição	Leilão/feira	Comerciante	Fazendas
Não	9	17	17	14	12
Sim	8	0	0	3	5

Ressalta-se que dez propriedades (10/17) abateram animais no final da vida reprodutiva, e a metade deles afirmou abatê-los na própria fazenda (5/10) e a outra em estabelecimentos sem inspeção veterinária (5/10). A Fig. 4 demonstra a frequência de búfalos por idade. Foi

observado que pelo menos 75% dos bubalinos possuíam idade até os 90 meses de idade, enquanto os outros 25% se distribuíram entre 90 e 300 meses de idade.

Figura 4. Representação do tipo Boxplot sobre a idade dos 417 búfalos envolvidos nesse estudo.



Aproximadamente 65% das propriedades afirmaram possuir assistência veterinária particular ou de cooperativa. As variáveis compartilhamento de aguadas, insumos ou funcionários, aluguel de pastos e presença de pastos comuns foram incomuns entre as propriedades analisadas. No entanto, o compartilhamento de equipamentos e itens esteve presente em aproximadamente 41% e 53% das propriedades, respectivamente (Tab. 8). Ainda que o compartilhamento de áreas alagadiças não se apresente frequente, este local é comum nas propriedades de criação de búfalos da região (13/17).

Tabela 8. Frequência de variáveis relacionadas a compartilhamentos entre fazendas de búfalos no Distrito Federal.

Respostas	Tipos de compartilhamento						
	Aguadas	Aluguel pastos	Pastos comuns	Itens	Insumos	Equipamentos	Funcionários
Não	14	12	13	8	12	10	14
Sim	3	5	4	9	5	7	3

A utilização de soro de leite para alimentação de búfalos foi rara, citada apenas em uma propriedade. Avaliando o hábito de testar búfalos para brucelose, ficou evidente, conforme a Tab. 9, que a prática é incomum na região.

Tabela 9. Frequência do teste de brucelose em propriedades de búfalos no Distrito Federal.

Teste de brucelose	Frequência	Porcentagem
Não	14	82,4%
Sim	3	17,6%
Total	17	100%

Os piquetes maternidade não foram usados comumente no manejo sanitário dos bubalinos (5/17). O questionário apontou que cinco propriedades (29,4%) desconhecem a vacinação contra brucelose, contudo indicou que a prática é comumente adotada em búfalos no Distrito Federal (70,6%). Ocorrência de abortos foi informada em três propriedades, e uma delas foi positiva para brucelose. Adicionalmente, a falta de destinação ideal para os restos abortivos fez-se presente em 12 propriedades. A aquisição de reprodutores foi citada por 41,2% (7/17) das propriedades, composto principalmente por animais oriundos de outras fazendas. Exposições e leilões novamente não foram citados nem como origem, nem como destino de animais. A venda de reprodutores foi ligeiramente mais comum, sendo informada por 52% das propriedades, feita diretamente a outras fazendas. Em relação a análise univariada, não foi observada significância estatística entre as variáveis dos questionários e ocorrência da doença.

Discussão

Os resultados do presente estudo demonstram que a prevalência animal (0,71%) foi consideravelmente inferior quando comparado com outros estudos brasileiros em búfalos

(DA COSTA; CURY; ROCHA, 1973; LAU; SINGH, 1985; FEITOSA; BITTAR; GOMES, 1991; MATHIAS et al., 1998; BASTIANETTO et al., 2005; DA SILVA et al., 2014a; DA SILVA; DA FONSECA; BARBOSA, 2014; SANTOS et al., 2017; BATISTA et al., 2019). Contudo, quando comparados com o resultado de estudos prévios conduzidos no Distrito Federal com a espécie bovina (GONÇALVES et al., 2009; LICURGO, 2016), observa-se que a prevalência animal foi similar, isto é, abaixo de 1%. Já a prevalência de focos (17,65%) foi superior, provavelmente devido ao número reduzido de fazendas que criam búfalos no DF, além do fato dos três búfalos positivos estarem presentes em três propriedades distintas e dispersas entre si. Vale ressaltar que duas propriedades positivas são justamente as de maior quantitativo e representam 89% de toda a movimentação da espécie no DF.

Segundo os estudos de Batista et al. (2019), o elevado tamanho do rebanho pode se comportar como fator protetivo uma vez que propriedades com esse perfil realizam o controle da doença, com vacinação e exames periódicos, enquanto propriedades menores não possuem recursos financeiros para a implementação do programa. Essa associação não foi encontrada no presente estudo, haja vista que 82% dos produtores não realizam testes para o controle da doença e o índice vacinal para a espécie no Distrito Federal é baixo, chegando a 33,7% de cobertura. Outros estudos apontam que a convivência entre vários animais em área reduzida pode facilitar a transmissão da brucelose e se constituir como importante fator de risco (MOTA et al., 2011).

O fluxo intenso de animais, especialmente relacionado à aquisição de reprodutores, foi associada a ocorrência de brucelose bovina (MOTA et al., 2016). Com base nos dados do presente estudo, o fluxo intenso de búfalos verificado no Distrito Federal se deve principalmente a aquisição de animais para corte, o que por normativo legal, é dispensada de apresentação de exames. Entretanto, é corriqueiro produtores declararem tal finalidade no momento da emissão da guia de transporte animal buscando redução de custos. Tal situação

pode ser ainda mais complexa para a fiscalização deste procedimento envolvendo a espécie bubalina, caracterizada como de tripla aptidão (corte, leite e energia) e longevidade marcante (PEREIRA et al., 2007; LOURENÇO JÚNIOR; GARCIA, 2008). Ante o exposto, embora não esteja qualificada a aquisição de reprodutores no presente estudo, há fluxo intenso de búfalos, o que poderia representar risco caso as movimentações estejam desprovidas de documentação zoossanitária.

Vale ressaltar que das três propriedades positivas da presente investigação, duas eram exclusivamente leiteiras e a outra mista. Para alguns autores, as propriedades leiteiras possuem duas vezes mais chances de ter pelo menos um animal positivo do que as propriedades de corte (BATISTA et al., 2019). As propriedades de leite, costumeiramente, aglomeram seus animais em pequenas áreas, favorecendo assim a transmissão da brucelose bubalina (SOUSA et al., 2017; VILLANUEVA et al., 2018).

Todas as propriedades analisadas nesse estudo foram consideradas periurbanas. Aproximadamente, 30% dessas propriedades não possuíam foco produtivo, tendo como finalidade lazer ou estimação, característica peculiar do Distrito Federal. Dessas sem foco produtivo, 80% não realizam testes de brucelose no rebanho, o que poderia sugerir um risco; entretanto tais propriedades movimentaram apenas seis animais. Alguns autores afirmam que a brucelose é um problema relevante em produções com grandes rebanhos e fluxo intenso de animais (MOTA et al., 2016; LICURGO, 2016).

Não foi observada associação de ocorrência de brucelose e existência de aguadas nas propriedades nesse estudo, embora essas áreas alagadiças estivessem presentes em 76,5% das propriedades analisadas. O comportamento de submergir nessas áreas pode ser um importante fator de risco tendendo a apresentar maior ocorrência de anticorpos contra *B. abortus* (SANTOS et al., 2017; BATISTA et al., 2019). Nesses locais, os búfalos podem entrar em contato com

água, urina, fezes e solo contaminados. Além disso, pode ocorrer manutenção das bactérias no ambiente por longos períodos em razão das boas condições de umidade e temperatura (SANTOS et al., 2017; VILLANUEVA et al., 2018).

Muitos produtores relataram que não abatem os búfalos no fim da vida reprodutiva (41%). Essa característica local é atribuída especialmente a afetividade que os criadores tem com a espécie devido à longevidade e a fácil domesticação. Foi observado que apesar da mediana se concentrar em torno de 20 a 24 meses de idade, é visível que várias ocorrências chegam até 300 meses de idade, característica peculiar da espécie.

Os resultados obtidos revelam que ainda são básicas as infraestruturas e as técnicas de manejo das propriedades, tais como ausências de curral e de ordenha mecânica, o hábito de não testar animais para brucelose, destinação inadequada de restos placentários e abortos, consumo e comercialização de leite cru e a manutenção de animais muito longevos no rebanho. Tais fatores foram considerados de risco para ocorrência de brucelose por outros autores (D'POOL et al., 2004; JERGEFA et al., 2009; MAGONA et al., 2009). Por outro lado, a variável assistência veterinária, considerada como fator protetivo por alguns autores (ARICAPA et al., 2008; AL-MAJALI et al., 2009), esteve presente em cerca de 65% das respostas (11/17).

A presença de outros animais no mesmo local de criação dos bubalinos foi comum no presente estudo. A coexistência da espécie bubalina com outras espécies de produção susceptíveis (KAOUD et al., 2010; HOLT et al., 2011) ou com a presença de animais selvagens (GODFROID et al., 2013) também já foram demonstradas como fatores de risco.

Os resultados deste estudo devem ser avaliados criteriosamente devido ao limitado número de propriedades rurais, todavia expõe que o serviço oficial veterinário deva se atentar para o potencial de transmissão da brucelose através do consumo de leite. Destaca-se que o

Distrito Federal caracteriza-se como um importante corredor sanitário brasileiro, devido a extensa malha viária que interliga vários estados.

É importante reconsiderar a estratégia vacinal, pois a adoção de vacinação em unidades federativas que possuem baixas prevalências pode não contribuir para diminuir a prevalência ou erradicar a doença e sim, a identificação e o abate sanitário dos animais positivos (GONÇALVES et al., 2009).

Diante do perfil traçado dos bubalinocultores do Distrito Federal, uma estratégia sanitária que poderia lograr positivamente seria certificar como livres todas as propriedades, conforme a legislação do PNCEBT (BRASIL, 2017). A execução seria pouco complexa, haja vista o pequeno número de propriedades. Entretanto, o custo-benefício para essa adoção voluntária é questionável pois o retorno do capital investido duraria no mínimo cinco anos e dependeria de pagamento de adicional por litro de leite, especialmente aos pequenos produtores (LEITE, 2012; LICURGO, 2016).

Diante do observado, o Distrito Federal caso decida por evoluir o programa deverá, considerando a classificação de risco das propriedades, aumentar a vigilância nos estabelecimentos e sanear todos os focos de brucelose. Ademais, deverá desenvolver políticas públicas para diminuir os custos operacionais de se implantar a certificação, como auxílio nos insumos e na disponibilização de veterinários para realização dos exames, além de dispor de fundos públicos de fomento à atividade que possibilitem empréstimos com juros baixos e com período de carência compatível com o programa. Adicionalmente, programas de educação sanitária poderiam trazer bons resultados, com a sensibilização dos proprietários sobre alguns dos fatores de risco analisados na presente investigação.

Referências

- AL-MAJALI, A. M. et al. Seroprevalence and risk factors for bovine brucellosis in Jordan. **Journal of Veterinary Science**, v. 10, n. 1, p. 61–65, mar. 2009.
- ARICAPA, H. J. et al. Prevalencia de brucelosis bovina, equina y humana en Caldas-Colombia-Sur America. **Biosalud**, v. 7, n. 1, p. 75–87, 2008.
- BASTIANETTO, E. et al. Brucelose em rebanhos de búfalos criados na região do Alto São Francisco - Minas Gerais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 29, n. 1, p. 55–56, mar. 2005.
- BATISTA, H. et al. Factors associated with the prevalence of antibodies against *Brucella abortus* in water buffaloes from Santarém, Lower Amazon region, Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, 24 jun. 2019.
- BRASIL. Instrução Normativa 50, de 24 de setembro de 2013. Altera a lista de doenças passíveis da aplicação de medidas de defesa sanitária animal, previstas no art. 61 do Regulamento do Serviço de Defesa Sanitária Animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF. 25 set. 2013. Seção 1, Edição 186, p.47.
- BRASIL. Instrução Normativa nº10, de 3 de março de 2017 - Fica estabelecido o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT e a Classificação das Unidades da Federação de acordo com o grau de risco para as doenças brucelose e tuberculose, assim como a definição de procedimentos de defesa sanitária animal a serem adotados de acordo com a classificação. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 20 jun. 2017. Seção 1, p. 4.
- DA COSTA, E. O.; CURY, R. S.; ROCHA, U. F. Sobre a ocorrência da brucelose em búfalos *Bubalus bubalis* (Lineaeus, 1958) no estado de Goiás - Inquérito Sorológico. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 39, p. 162–164, 1973.
- DA SILVA, J. B. et al. Serological survey and risk factors for brucellosis in water buffaloes in the state of Pará, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 46, n. 2, p. 385–389, fev. 2014a.
- DA SILVA, J. B.; DA FONSECA, A. H.; BARBOSA, J. D. Serological survey of *Mycobacterium bovis*, *Brucella abortus* and *Borrelia burgdorferi* in water buffaloes in the northern region of Brazil. **Revista de Salud Animal**, v. 36, n. 1, p. 35–39, abr. 2014.
- D'POOL, G. et al. Prevalencia de brucelosis bovina mediante ELISA competitivo en el municipio La Cañada de Urdaneta estado Zulia Venezuela. **Rev. cient. (Maracaibo)**, v. 14, n. 2, p. 168–176, 2004.
- FEITOSA, M. H.; BITTAR, C. R.; GOMES, S. P. Brucelose: levantamento sorológico no Estado de São Paulo no período de 1977 a 1987. **Veterinária e Zootecnia**, v. 3, p. 9–15, 1991.
- GODFROID, J. et al. Brucellosis in terrestrial wildlife: -EN- -FR- -ES-. **Revue Scientifique et Technique de l'OIE**, v. 32, n. 1, p. 27–42, 1 abr. 2013.
- GONÇALVES, V. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Distrito Federal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 14–18, 23 set. 2009.

HOLT, H. R. et al. Brucella spp. infection in large ruminants in an endemic area of Egypt: cross-sectional study investigating seroprevalence, risk factors and livestock owner's knowledge, attitudes and practices (KAPs). **BMC Public Health**, v. 11, n. 1, p. 341, 19 maio 2011.

IBGE. **Censo Agropecuário de 2017**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6918>>. Acesso em: 6 maio. 2020.

JERGEFA, T. et al. Epidemiological study of bovine brucellosis in three agro-ecological areas of central Oromiya, Ethiopia. **Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)**, v. 28, n. 3, p. 933–943, dez. 2009.

KAOUD, H. et al. Epidemiology of brucellosis among farm animals. **Nature and Science**, v. 8, n. 5, 2010.

LAU, H. D.; SINGH, N. P. Distribuição e prevalência da brucelose em búfalos no Estado do Pará. **Infoteca da Embrapa**, 15 p., 1986.

LEITE, B. M. **Aspectos epidemiológicos e econômicos da certificação de propriedades leiteiras como livres de brucelose e tuberculose bovina**. Dissertação—Brasília, DF: Universidade de Brasília, jul. 2012.

LICURGO, J. B. **Prevalência e fatores de risco da brucelose bovina no Distrito Federal, Brasil, 2015**. Dissertação—Brasília, DF: Universidade de Brasília, 9 dez. 2016.

LOURENÇO JÚNIOR, J. B.; GARCIA, A. R. **Panorama da bubalinocultura na amazônia**. In: Encontro internacional da pecuária da amazônia. Belém, Pará: 2008. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/409969>>. Acesso em: 6 maio. 2020

MAGONA, J. W. et al. Seroprevalence and potential risk of bovine brucellosis in zerograzing and pastoral dairy systems in Uganda. **Tropical Animal Health and Production**, v. 41, n. 8, p. 1765–1771, dez. 2009.

MATHIAS, L. A. et al. Avaliação de um teste imunoenzimático competitivo no diagnóstico sorológico da brucelose em búfalos (*Bubalus bubalis*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 18, n. 3–4, p. 111–114, jul. 1998.

MOTA, A. L. A. DE A. **Fatores de risco para brucelose bovina no Brasil**. Dissertação—Brasília, DF: UNB, 15 dez. 2011.

MOTA, A. L. A. DE A. et al. Large-scale study of herd-level risk factors for bovine brucellosis in Brazil. **Acta Tropica**, v. 164, p. 226–232, dez. 2016.

NARDI JÚNIOR, G. et al. Brucelose em bubalinos: uma revisão com ênfase ao sorodiagnóstico oficial. **Veterinária e Zootecnia**, v. 19, n. 2, p. 15, 1 jun. 2012.

OIE. **Brucellosis**: OIE - World Organisation for Animal Health, 2020. Disponível em: <<https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/brucellosis/#G>>. Acesso em: 5 maio 2020.

PEREIRA, R. G. DE A. P. et al. **Eficiência reprodutiva de búfalos**. EMBRAPA Rondônia, 2007. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/709601>>. Acesso em: 6 jun. 2020.

SANTOS, L. et al. Detection of *Brucella* sp. infection through serological, microbiological, and molecular methods applied to buffaloes in Maranhão State, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 49, 18 fev. 2017.

SEAGRI-DF. **Relatório de exploração pecuária do Distrito Federal**. Brasília, DF: Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural, 2020. Acesso em: 7 maio. 2020.

SOUSA, M. G. S. et al. Brucellosis in water buffaloes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 234–240, mar. 2017.

STATACORP. 2011. **Stata: Release 12. Statistical Software**. College Station, TX: StataCorp LP.

SPICKLER, A. R. **Brucellosis: *Brucella abortus***. Factsheet. 12 p., maio 2018. Disponível em: <<http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php>> Acesso em 20 março 2020.

THRUSFIELD, M. V. **Epidemiologia Veterinária**. 2ª edição ed. São Paulo, Brasil.: Roca, 2004.

VILLANUEVA, M. A. et al. **Emerging Infectious Diseases in Water Buffalo - An Economic and Public Health Concern**. Londres, Inglaterra: Intechopen, 2018. 55 p.

WORLD BANK; TAFS FORUM. **World Livestock Disease Atlas: A Quantitative Analysis of Global Animal Health Data (2006-2009)**. Washington, EUA.: World Bank, 2011. 104 p.

Anexo I – Questionário epidemiológico

- Tipo de Exploração (corte, leite ou mista);
- Tipo de criação (extensivo, semi-confinado ou confinado);
- Número de ordenhas por dia (não ordenha, 1 ordenha, 2 ou 3 ordenhas);
- Tipo da ordenha (não ordenha, manual, mecânica ao pé ou mecânica em sala de ordenha);
- Número de búfalas em lactação e a produção diária em litros da fazenda;
- Uso de inseminação artificial (não usa, usa inseminação artificial e touro, só usa inseminação artificial);
- Raça predominante de bubalinos (jafarabadi, carabao, murreh, mediterrâneo ou outras raças);
- Quantidade de machos castrados e inteiros;
- Presença de outros animais domésticos na propriedade (ovinos/capinos, equídeos, suídeos, aves comerciais, cães e gatos) e de animais de vida livre (sim ou não); e, se sim, quais espécies de animais de vida livre (cervídeos, capivaras, felídeos, marsupiais, macacos ou outros);
- Realização de teste para diagnóstico de brucelose e qual a frequência (uma vez ao ano, duas vezes ao ano, quando compra animais ou quando exigido para trânsito/eventos/crédito);
- Aquisição de bubalinos nos últimos 2 anos (sim ou não) e se introduziu fêmeas ou machos bubalinos com finalidade de reprodução (sim ou não). Caso a resposta fosse sim para qualquer uma delas, especificou-se a procedência dos animais (exposição, leilão/feira, comerciante de gado ou outras fazendas);
- Venda de fêmeas ou machos para reprodução (sim ou não). Se vender, qual o destino dos animais (exposição, leilão/feira, comerciante de gado ou outras fazendas);

- Local de abate das fêmeas e machos adultos (na própria fazenda, em estabelecimento com ou sem inspeção veterinária ou não abate);
- Aluguel de pasto;
- Pastos em comum com outras propriedades;
- Compartilha de outros itens com outras propriedades (sim ou não). Se compartilhar, que tipo de item (insumos, equipamentos ou funcionários);
- Existência na propriedade de áreas alagadiças às quais os búfalos tem acesso;
- Entrega de leite (cooperativa, laticínio, direto ao consumidor ou não entrega);
- Resfriamento do leite (sim ou não). Se resfriar, como faz (em resfriador ou tanque de expansão próprio ou coletivo);
- Entrega do leite a granel;
- Produção de queijo, manteiga ou outro produto lácteo na propriedade (sim ou não). E se produzir, com que finalidade (consumo próprio ou venda);
- Consumo de leite cru ou derivado lácteo produzido com leite cru;
- Assistência veterinária (possui ou não). Se sim, de que tipo (veterinário da cooperativa ou particular);
- Alimentação de bubalinos com soro de leite bovino ou bubalino;
- Número de bubalinos comprados e vendidos no último ano, e de quantas fazendas;
- Abortos de búfalas no último ano (sim, não ou não sabe);
- Destinação do feto abortado (enterra/joga em fossa/queima, alimenta porco/cão ou não faz nada);
- Se o produtor vacina contra a brucelose com a B19;
- Se a vacina contra a brucelose é bem conservada e se a vacinação é corretamente executada;

- Existência na propriedade de área onde o gado permanece concentrado durante o dia ou à noite (não, palafita, ou outro tipo);
- Existência de piquete separado para fêmeas na fase de parto e/ou pós-parto.
- Compartilhamento de aguadas/bebedouros com animais de outras propriedades;
- Existência nas propriedades de área para pouso de boiada em trânsito;
- Classificação da propriedade (rural clássica, aldeia indígena, assentamento ou periferia urbana);