



Relatório Final de Estágio

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**BRUCELOSE EM PEQUENOS RUMINANTES  
REGIÃO DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO**

Luís Pedro Baptista Pereira

Orientador

**Professor Doutor João Niza Ribeiro**

Co-orientador

**Dra. Ana Paula Figueiras**

Porto 2015



Relatório Final de Estágio

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**BRUCELOSE EM PEQUENOS RUMINANTES  
REGIÃO DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO**

Luís Pedro Baptista Pereira

Orientador

**Professor Doutor João Niza Ribeiro**

Co-orientador

**Dra. Ana Paula Figueiras**

Porto 2015

## Resumo

Este trabalho insere-se na área de Saúde Pública em Brucelose de PR (Pequenos Ruminantes). Pretende-se avaliar os fatores de risco associados a incidência e a prevalência em explorações com Brucelose na Região de Trás-os-Montes e Alto Douro com vista à realização de um modelo de IE (Inquérito Epidemiológico).

O estudo prático apresentado divide-se em três fases. Primeiro, a análise qualitativa dos resultados de um questionário sobre fatores de risco aplicado a um conjunto de oito médicos veterinários associados aos SVRN (Serviços Veterinários da Região Norte), depois, a análise qualitativa dos fatores de risco identificados a partir da consulta de dados dos SI (Sistemas informáticos), como o PISA.net, Smartdocs, SNIRA, a um conjunto de doze explorações (incidentes e prevalentes) da região em estudo e, por fim, a análise qualitativa dos fatores de risco identificados a partir de dois questionários de campo, um para explorações incidentes e, outro, para prevalentes, com vista a validar o modelo de IE. Para a recolha de dados foram elaboradas as seguintes ferramentas: um questionário para aplicar a médicos veterinários, grelhas para a recolha de dados dos SI e dois questionários de campo, um dirigido a explorações incidentes e outro a prevalentes.

Identificaram-se e distinguiram-se os fatores de risco associados a explorações incidentes e prevalentes, apresentando-se as suas vantagens na elaboração dos IE que respeitem esta distinção para o controlo da brucelose em PR, na região de Trás-os-Montes e Alto Douro.

A melhoria do programa de erradicação da brucelose para a região em estudo deve passar pela aplicação mais frequente de IE atualizados, dirigidos a explorações incidentes e prevalentes e por um plano sanitário de prevenção de fatores de risco que seja mais eficaz no controlo da vacinação e movimentação animal.

## **Abstract**

The present work falls under the Public Health research area and focuses on brucellosis in small ruminants (SR). The aim was to evaluate the risk factors associated with the incidence and prevalence of brucellosis in farms of Trás-os-Montes e Alto Douro region in order to create a model of Epidemiological Survey (ES).

The case study presented was divided in three phases comprising the qualitative analysis of the results obtained from (a) an inquiry on risk factors applied to a set of eight veterinary doctors of the SVRN (North Region Veterinary Services), (b) the data query of IT systems such as PISA.net, SmartDocs, SNIRA in a set of twelve farms (incident and prevalent) of the study area, and, finally, (c) two field inquiries, one directed to incident farms and other to prevalent ones in order to validate the ES model. For data collection, the following tools were prepared: an inquiry to be applied to veterinary doctors, scales for the collection of the IT data and two field inquiries, one directed to incident farms and other prevalent ones.

The risk factors associated with incident and prevalent farms were identified and the advantages of the development of ES respecting this distinction were also discussed so that a better control of brucellosis in SR is achieved in the region of Trás-os Montes Alto Douro.

Brucellosis eradication program must go through more extensive use of updated and directed ES and by a health plan effective in controlling the entrance and exit of animals to and from the farms, since it was evident the high risk of animals movement in the spread of this disease.

## Lista de Abreviaturas

**B.abortus** – *Brucella abortus*

**B.canis** – *Brucella canis*

**B.melitensis** – *Brucella melitensis*

**B.neotomae** – *Brucella neotomae*

**B.ovis** – *Brucella ovis*

**B.suis** – *Brucella suis*

**CS** – Classificação Sanitária

**DGAV** – Direcção Geral de Alimentação e Veterinária

**DSVRN** – Direcção de Serviços Veterinários da Região Norte

**cElisa** – teste ELISA competitivo

**iELISA** – teste ELISA indirecto

**FC** – Fixação Complemento

**FPA** - Fluorescence polarization assay

**IE** – Inquérito epidemiológico

**IgG** – Imunoglobulina G

**OIE** – World Organization for Animal Health

**OPPs** – Organização de Produtores de Pecuária

**PNSA** – Programa Nacional Sanitário Animal

**PR** – Pequenos ruminantes

**RB** – Rosa Bengala

**Rev-1** – vacina de *Brucella Melitensis* para Pequenos Ruminantes

**SIG** – Sistema de Informação Geográfica

**SNIRA** – Sistema Nacional de Informação e Registo animal

**SV** – Serviços Veterinários

**SI** – Sistemas Informáticos

**TAS** – Teste de Aglutinação do Soro

# Índice

Parte I. Revisão Bibliográfica.....	1
1. Brucelose.....	1
1.1 Introdução.....	1
1.2 Importância.....	1
1.2.1 Brucelose em humanos.....	1
1.2.2 Brucelose em animais.....	2
2. Epidemiologia.....	3
2.1 Agentes - Género <i>Brucella</i> e seus hospedeiros.....	3
2.2 Infeções cruzadas.....	3
2.3 Fatores de risco.....	3
2.4 Fontes de infeção e modos de transmissão.....	5
2.4.1 Nos pequenos ruminantes.....	5
2.4.2 No homem.....	6
2.5 Sintomatologia clínica e Patogenia em animais.....	6
2.6 Caracterização clínica da brucelose em animais.....	7
2.6.1 Caprinos.....	7
2.6.2 Ovinos.....	8
2.6.3 Carnívoros.....	8
3. Diagnóstico.....	8
3.1 Métodos bacteriológicos.....	9
3.2 Métodos sorológicos.....	9
4. Controlo e Erradicação da Brucelose em Animais.....	10
4.1 Em Portugal.....	10
4.1.1 Programa Especial de Vacinação em Trás-os-Montes.....	10
4.2 Controlo do movimento animal.....	12
5. Vacinação.....	12
Parte II. Estudo da Brucelose dos Pequenos Ruminantes na DIV de Vila Real.....	13
1. Material e Metodologia.....	13
2. Resultados e discussão da análise dos dados.....	14
2.1. Questionário 1.....	14
2.2. Informação recolhida nos SI acerca da situação epidemiológica de 12 explorações de Trás-os-Montes.....	18

2.3. Informação recolhida nos Questionários de Campo dirigidos às explorações	23
3. CONCLUSÃO .....	29
V. Bibliografia.....	31
Anexo I Questionário dirigido a Médicos veterinários dos SVRN e OPPS	
Anexo II Grelha de recolha de Informação dos SI	

## **Parte I. Revisão Bibliográfica**

### **1. Brucelose**

#### **1.1 Introdução**

A doença da brucelose é uma doença causada por bactérias do género *Brucella* que afeta espécies animais e o próprio homem em todo o mundo. Trata-se de uma doença preocupante sobretudo pelo seu elevado grau de morbidade, com forte impacto na economia e na saúde pública (zoonose). É vulgarmente conhecida por doença de Malta por ter sido descoberta em Malta, na década de 1850. Ao longo de décadas, muitos malteses foram infetados porque, apesar de terem sido introduzidas medidas de controlo, muitas vezes, essas medidas não chegaram a ser aplicadas (Wyatt 2013). Tendo origem mediterrânica foi-se dispersando por todo o mundo.

O agente causal da brucelose, *Brucella melitensis*, foi primeiramente, isolado por Sir David Bruce, médico inglês, em 1887 a partir do baço de um soldado britânico na ilha de Malta, e foi denominado *Micrococcus melitensis*. (Bruce 1887). Zammit, um médico maltês, demonstrou a natureza zoonótica de *B. melitensis* ao isolá-la em leite de cabra. O trabalho do Dr. Themistocles Zammit mostrou que cabras infetadas transmitiam a brucelose e que a proibição do consumo do seu leite seria eficaz para impedir a sua transmissão. A pasteurização foi introduzida na ilha de Malta a partir de 1930 mas apenas em 2005 ficou livre de brucelose, quase um século após a descoberta de Zammit (Nicoletti 2010).

A transmissão entre animais é possível através do contacto sexual e por inalação, em situações de sobrelotação de animais, com atmosfera saturada (Wyatt 2013).

Em 1920, Meyer e Shaw, renomearam a bactéria como *Brucella melitensis* em homenagem ao Dr. Bruce, autor do primeiro isolamento (Madkour 1989).

De todas as espécies documentadas que afetam humanos a responsável pelo maior número de casos é a *B. melitensis*, presente maioritariamente em ovinos e caprinos. Vários estudos sustentam que a doença apenas existe nos humanos devido à sua perpetuação no mundo animal.

#### **1.2 Importância**

##### **1.2.1 Brucelose em humanos**

Segundo o European Centre for Disease Prevention and Control, a brucelose ocorre por todo o mundo, mas a região mediterrânica tem sido particularmente afetada. Os humanos tornaram-se

infetados, por contacto direto ou contacto indireto, com animais ou com produtos animais contaminados, incluindo leite não pasteurizado e produtos láteos, ou pela inalação de aerossóis. Os reservatórios mais comuns de *Brucella spp* que podem infetar os humanos são os grandes ruminantes, cães, caprinos, ovinos e porcos, sendo animais domésticos ou silváticos.

Na União Europeia o número de casos declarados diminuiu 11,7% em 2010 comparando com 2009. Além disso verificou-se estatisticamente uma diminuição significativa do número de casos entre 2006-2010. Em 2010 foram confirmados 356 casos de brucelose humana. Tal como em anos anteriores foi reportado um reduzido número de casos, tendo Portugal, Espanha e Grécia representado 74% de todos os casos confirmados em 2010. Em 2010 nenhuma morte declarada se deveu a brucelose, contudo 34,5% dos pacientes com infeção confirmada foram hospitalizados (EFSA 2010). Em Portugal Continental a brucelose é uma doença endémica. A epidemiologia nacional, à semelhança do que se verifica na maioria dos restantes países, parece mostrar uma correlação entre a distribuição de casos de brucelose humana e animal (Carvalho *et al.* 1995).

A sazonalidade dos casos reportados reflete a tendência global geográfica referida em diversos estudos sobre a brucelose em Portugal e outros países europeus. Aponta para picos nos meses de março a junho, coincidindo com o período de maior número de partos, especialmente em pequenos ruminantes, altura em que há maior manipulação animal, mais intervenções veterinárias e mais leite disponível para transformação (Costa & Almeida 1993; Carvalho *et al.* 1995; Pessegueiro, Barata & Correia 2003).

### **1.2.2 Brucelose em animais**

Na Europa a doença está principalmente concentrada nos países membros da zona sul (EFSA 2011). Na evolução da brucelose nos efetivos de pequenos ruminantes a evolução temporal tem também sido favoravelmente decrescente. Em Portugal as tendências decrescentes na prevalência de brucelose registadas na EU também se verificam, quer para bovinos, quer para pequenos ruminantes. A prevalência de brucelose em animais e efetivos de pequenos ruminantes é claramente superior à registada em bovinos. Com quase 60 anos volvidos desde o início oficial de implementação de programas de controlo de brucelose em Portugal temos hoje dados que reconhecem o esforço feito indicando uma prevalência e incidência claramente menor daquela que era registada no início do século XX. (Direcção dos Serviços de Saúde e Protecção Animal 2012b).

## 2. Epidemiologia

### 2.1 Agentes - Género *Brucella* e seus hospedeiros

Atualmente são reconhecidas mais de 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).

As espécies de *Brucella*, que infetam o rebanho, é *B. melitensis*, encontrada principalmente em ovinos e caprinos; *B. abortus*, encontrada principalmente em bovinos; *B. suis*, principalmente em suínos; e *B. ovis* encontrado principalmente em ovinos (Crawford 1990). *Brucella melitensis* é a espécie mais frequente, virulenta, invasiva e patogénica do género *Brucella* e *Brucella* spp infeta não apenas os seus hospedeiros prediletos, como também outras espécies de animais domésticos e selvagens que, por sua vez, podem atuar como reservatórios da doença, noutras espécies animais e no homem. (Aparicio 2013). Com exceção de *B. ovis* e *B. neotomae*, todas as espécies são patogénicas para o Homem (Blasco 2010). As espécies de *Brucella* spp. variam não só em patogenicidade, mas também nos sinais e sintomas clínicos provocados pela doença (Nicoletti 2010).

### 2.2 Infeções cruzadas

A *Brucella melitensis* pode infetar não só bovinos mas também bezerros, através da ingestão de leite contaminado (Kahler 2000), também o isolamento de *B. melitensis* em cães foi demonstrado e isto foi observado por favorecer o aumento da incidência da doença, dado que os cães podem arrastar placentas ou fetos abortados para áreas não infetadas (Hinié *et al.* 2012). As *Brucella* são relativamente específicas para o seu hospedeiro mas infeções cruzadas entre espécies ocorrem, especialmente com *B.melitensis*. (Corbel 2006)

### 2.3 Fatores de risco

O movimento e mistura de rebanhos e espécies são, provavelmente, os principais fatores de risco para a transmissão da brucelose em comunidades de pastoreio. A cessação prematura da vacinação tem sido uma causa comum de falha nos programas de controlo da brucelose e pode resultar num ressurgimento rápido da doença. (Racloz *et al.* 2013)

A migração e contacto com outros animais, por razões de pastagem ou fontes de água comuns, formam um grande risco para a transmissão de brucelose nos rebanhos em pastoreio, mas outros fatores, como falta de higiene, a troca de animais infectados e o contacto com

animais selvagens infetados, também poderiam contribuir. Os riscos para a difusão e transmissão de brucelose, tais como, a migração de rebanhos, com contactos frequentes com outros rebanhos na alimentação comum e fontes de água próximas, são fatores de risco inerentes ao estilo de vida dos animais que fazem pastoreio. Aliás, em quintas de produção extensiva de caprinos e ovinos, é prática comum para os rebanhos compartilharem pastagens e fontes de água, antes de voltarem para os seus lugares. Essa mistura de animais é um fator de risco para a propagação da doença a partir de infetados para rebanhos livres e dificulta o controlo da doença. (Racloz *et al.* 2013).

A mobilidade aumenta a probabilidade de contacto com outros rebanhos potencialmente infetados ou com animais silváticos reservatórios da doença. A mistura de espécies num rebanho pressupõe um maior risco de transmissão da doença entre espécies. (Megersa *et al.* 2011).

O programa de erradicação da brucelose em Trás-os-Montes de 2014 (DGAV) refere-se a essa realidade quando afirma que os sistemas de produção são extensivos, utilizando-se de forma generalizada o pastoreio de áreas comuns e por vezes, exclusivamente de baldios, pois a figura do pastor sem terra é comum na região de Trás-os-Montes. A mentalidade conservadora dos produtores e práticas tradicionais podem interferir com a aceitação de medidas de controlo da doença e pode ser difícil de mudar por causa de falta de alternativas. Os agricultores não sabem, com frequência, que a brucelose pode causar aborto.

Todos estes fatores contribuem para a propagação da brucelose e, quando combinados com os hábitos alimentares e estilo de vida em pastoreio, ajuda na transmissão da brucelose para a população humana e controlar a brucelose, nessas comunidades, é desafiante (McDermott & Arami 2002). Os animais também podem ter doença subaguda e crónica, daí a sua persistência em níveis endémicos baixos, durante todo o ano (Roth *et al.* 2003).

Sistemas agrícolas de pequena escala, como o sistema de produção em pastoreio, são também afetados, devido à proximidade entre os animais e os seus proprietários, ao seu estilo de vida móvel e do marketing tradicional de produtos não pasteurizados. Os sistemas em pastoreio, muitas vezes, têm acesso limitado a serviços de saúde pública e veterinária, tornando-se assim mais difícil controlar e erradicar a doença a longo prazo (Schelling *et al.* 2005).

Em áreas de elevada densidade de cabras, é comum encontrar pastos comuns, falta de higiene em corrais, rebanhos nómadas e proprietários com baixa perceção do manejo de rebanhos. (Acha & Szyfres 2003). Como as cabras existem sobretudo em regiões muito pobres, é difícil executar os programas de erradicação. Nestas áreas a reinfeção ocorre

constantemente (Smits 2013). As cabras partilham as camas para se protegerem do frio, o que conduz à infeção dos animais. (Elberg 1981).

Reconhece-se que é mais provável os rebanhos grandes estarem infetados que os rebanhos pequenos (Robinson 2003). Rebanhos maiores, e aqueles que incluem espécies mistas, parecem ser mais propensos a circulação da doença (Racloz *et al.* 2013). A prevalência da doença e a taxa de abortos aumentam com a prática de mistura de rebanhos, compra de animais a outras explorações (Matope *et al.* 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 (Pereira *et al.* 2001).

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 infetados e exposição prolongada ao agente, especialmente em rebanhos onde as fêmeas gestantes não são separadas (Megersa *et al.* 2011). Por outro lado, a desinfecção das explorações na frequência de 3 ou mais vezes por ano é indicado como um importante fator de proteção (Moreno & Domínguez 2000). A baixa frequência de remoção de estrume e limpeza das instalações dos animais estão relacionados com o aumento da seroprevalência de brucelose (Mainar & Vázquez 1999).

## **2.4 Fontes de infeção e modos de transmissão**

### **2.4.1 Nos pequenos ruminantes**

Em menor proporção, as explorações podem ser contaminadas através de matéria fecal de jovens animais alimentados com leite contaminado. A mais comum forma de transmissão é aquela que ocorre através do trato gastrointestinal por ingestão de pastos, alimentos, forragens contaminadas ou água contaminada. Além disso, a contaminação com tecidos do parto, fetos, membranas fetais, nados mortos, secreções vaginais com um grande número de microorganismos constituem uma fonte de infeção muito importante. Foi também comprovado experimentalmente que o microorganismo pode penetrar pele não intacta, assim como pele intacta, embora o mecanismo pelo qual isto acontece seja desconhecido. A forma intra-uterina de infeção usada na inseminação artificial é muito importante na transmissão da infeção. A utilização de machos contaminados, para inseminação artificial, constitui um importante risco. A infeção de cabras, in útero, não é rara e as crias podem tornar-se infetadas durante o período de aleitamento. (Acha & Szyfres 2003)

#### 2.4.2 No homem

O homem é infetado pelos animais, por contacto direto ou indireto, pela ingestão de produtos animais e pela inalação de aerossóis. Queijo fresco e leite cru de cabras e ovelhas infetadas com *B.melitensis* são os mais comuns veículos de infeção e podem causar múltiplos casos de brucelose humana. A transmissão é possível através de vegetais crus e água contaminada através das excreções de animais infetados, que servem como fonte de infeção. A brucelose humana é uma doença profissional do curral e de trabalhadores de matadouros, talhantes e veterinários. A infeção é normalmente contraída por manipulação de fetos e nados mortos ou por contacto com secreções vaginais, excreções e carcaças de animais infetados (Acha & Szyfres 2003). Regra geral, a prevenção da brucelose humana, depende predominantemente, do controlo da doença, em animais (Pappas *et al.*2006).

#### 2.5 Sintomatologia clínica e Patogenia em animais

A brucelose é uma doença subaguda ou crónica que pode afetar muitas espécies de animais. Em animais sexualmente maduros a infeção localiza-se no trato reprodutivo e tipicamente produz placentite seguida de aborto, em fêmeas prenhas, normalmente durante o último terço da gestação, assim como, epididimite e orquite nos machos. Sinais clínicos característicos, mas não específicos, de brucelose na maioria dos animais são o aborto, partos prematuros e placentas retidas. Há diminuição da produção de leite devido a partos prematuros, interferência com infertilidade, normalmente temporária. O úbere está permanentemente infetado, especialmente em vacas e cabras. Infeções em ovinos resultam em orquite e epididimite, no caso de *B.melitensis* e *B.ovis*. Em caprinos, bovinos, suínos e cães complicações semelhantes podem seguir-se à infeção com *B.melitensis*, *B.abortus*, *B.suis*, *B.canis*, respetivamente. Artrite é um sinal raro de infeção, por *B.melitensis*, em ovelhas e cabras. *Brucella Melitensis*, *B. abortus* e *B. suis*, são transmitidas entre os animais tanto vertical como horizontalmente, e causam aborto e infertilidade nos seus hospedeiros naturais primários - caprinos e ovinos (*B. melitensis*), vacas (*B. abortus*) e porcas (*B. suis*).

*Brucella* normalmente entra no corpo, por via oral, e aloja-se na mucosa, onde as bactérias são ingeridas pelos fagócitos localizados por debaixo da submucosa. Uma vez internalizada, a *Brucella* aloja-se num vacúolo que amadurece, desde um estado precoce a um estado de endossoma tardio e, a menos que seja destruído, vai multiplicar-se no retículo endoplasmático dos macrófagos. No entanto, nem todas as *Brucella* sobrevivem, onde as

bactérias não sejam suficientemente numerosas e o animal tenha um sistema imunitário competente, elas são dirigidas em direção aos lisossomas, onde são destruídas, e o complexo de histocompatibilidade, na superfície celular, apresenta os péptidos a linfócitos Th1 e Th2, para provocar uma resposta imunitária (Reynoso *et al.* 2005).

Estas bactérias multiplicam-se abundantemente na placenta e cotilédones, córion e fluidos fetais, onde provocam lesões na parede do órgão, induzindo endometriose ulcerosa nos espaços intercotiledonários e destruição das vilosidades, levando à morte e expulsão do feto (Xavier *et al.* 2009).

A principal característica do género *Brucella* é a sua capacidade para sobreviver no interior das células fagocíticas e não fagocíticas. Apesar de uma ampla variedade de fatores explicarem a capacidade do género *Brucella* se multiplicar e se disseminar para novas células, até agora nenhum fator, isoladamente, demonstrou ser responsável pela sua virulência (Celli & Gorvel 2004).

As células alvo e tecidos da *Brucella spp* incluem os trofoblastos, o pulmão fetal, os macrófagos e os órgãos reprodutores masculino e feminino. Subsequentemente, vísceras fetais e placenta tornam-se fortemente infetadas, e as placentites e os abortos ocorrem, com consequências económicas devastadoras sobre a produção de gado (Adams 2002). Os mecanismos do processo de internalização celular só começaram a ser melhor compreendidos recentemente. O  $\beta$ -1,2-glucan cíclico é uma molécula secretada no periplasma de *Brucella* e é necessário para evitar a fusão do fagossoma com os lisossomas. O sistema de secreção tipo IV permite a translocação das proteínas efetoras da *Brucella* nas células do hospedeiro e é essencial para a sobrevivência e replicação de *Brucella* nas células hospedeiras infetadas.

*Brucella spp.* pode invadir as células epiteliais do hospedeiro, permitindo a infeção através da superfícies das mucosas: células M no intestino foram identificadas como uma porta de entrada para *Brucella spp.* (Ackermmann *et al.* 1988). *Brucella spp.* invade , geralmente através do aparelho digestivo ou trato respiratório, e é capaz de sobreviver intracelularmente dentro das células hospedeiras, quer fagocíticas quer não fagocíticas (Carvalho *et al.* 2010).

## **2.6 Caracterização clínica da brucelose em animais**

### **2.6.1 Caprinos**

O principal agente etiológico é a *B.melitensis* com os seus 3 biovars, Infeção por *B.suis* e *B.abortus* podem ocorrer, ocasionalmente. A sintomatologia é semelhante à observada noutras espécies e o principal sintoma é o aborto, que ocorre mais frequentemente no terceiro ou

quarto mês de gestação. (Acha & Szyfres 2003). A infecção na glândula mamária é comum (Alton 1988). Em rebanhos cronicamente infetados, os sinais de doença não são evidentes, embora o patogénico possa ser frequentemente isolado num grande número de tecidos e órgãos. Diversos investigadores observaram que cabras jovens podem nascer com a infecção ou tornar-se infetadas, a curto prazo, após nascimento. Grande parte delas recupera espontaneamente antes de atingir a idade reprodutiva (Acha & Szyfres 2003).

### **2.6.2 Ovinos**

A brucelose em ovelhas tem sintomatologia semelhante à doença em cabras, mas as ovelhas parecem ter mais resistência à infecção e, em rebanhos mistos, poucas são as ovelhas infetadas, em comparação com as cabras. Os abortos também são menos comuns (Acha & Szyfres 2003).

### **2.6.3 Carnívoros**

Casos esporádicos de brucelose causados por *B.abortus*, *B.suis* e *B.melitensis* ocorrem em cães. Adquirem a infecção primariamente através do consumo de material contaminado, especialmente fetos e leite. O curso da infecção é normalmente subclínico mas também pode ter sintomatologia severa com febre, emaciação, artrite, orquite, anestro e, por vezes, aborto (Acha & Szyfres 2003).

## **3. Diagnóstico**

Os testes de seroaglutinação (TAS) e rosabengala (RB) são frequentemente usados como testes de diagnóstico para brucelose, contudo a OIE e a União Europeia, recentemente, decidiram não recomendar o uso do teste de seroaglutinação porque o consideram inferior aos outros testes padrão. O teste de fixação de complemento (TCF) é usado como um teste confirmativo após um teste de aglutinação positivo. Este teste está, gradualmente, a ser substituído pelo iElisa e, mais recentemente, pelo FPA. Nenhum teste sorológico pode diferenciar, sem qualquer margem de dúvida, animais vacinados com Rev1 e animais infetados, com *Brucella* spp, naturalmente. (Godfroid *et al.* 2010). Os valores previstos de sensibilidade segundo o critério de bacteriologia, do RB e FC são 92,5% e 92,6% e o valor de especificidade segundo o critério de epidemiologia, para RB e FC é 99,9% com intervalo de confiança de 95 %, para ambos, segundo o modelo de metaregressão logística, para PR (EFSA 2006).

Em Portugal, o Programa Nacional de Erradicação da Brucelose para Trás-os-Montes refere o rastreio serológico anual a animais a todos os animais elegíveis, isto é, a partir dos 3 meses de idade, ou a partir de 12 meses após a vacinação. As provas serológicas são o RB e a FC, de acordo com o anexo C da Diretiva 91/68/CE. O programa, no que se reporta à identificação animal, à recolha de sangues para o controlo serológico e à aplicação da vacina Rev1, é executado pelas OPP e nos não aderentes às OPP é executado pelos serviços oficiais.

### **3.1 Métodos bacteriológicos**

O isolamento e identificação de *Brucella* oferece um diagnóstico definitivo de brucelose e pode ser útil para propósito epidemiológico e para monitorizar a progressão de um programa de vacinação (Corbel 2006).

### **3.2 Métodos sorológicos**

Os testes serológicos são o método de eleição no programa de controlo e erradicação. Conforme descrito num relatório da OMS, a brucelose deve ser diagnosticada ao nível do efetivo, devido ao período de incubação em animais infetados, à presença de animais serologicamente negativos, bem como, a presença esperada de resultados falso-negativos.

O TRB é um excelente teste mas pode ser excessivamente sensível para o diagnóstico em animais individualmente, particularmente nos vacinados. É combinado com o teste confirmativo, de FC. Os testes ELISA oferecem uma excelente sensibilidade e especificidade, são mais adequados do que o teste de FC mas, por vezes, não detetam animais infetados, que são TRB positivos. Os testes ELISA são mais específicos que os testes RB ou os testes de FC. Para ovinos e caprinos, o RBT e CFT são apropriados como testes padrão. A RBT é útil para deteção precoce de *B. Melitensis* de animais infetados. Há 2 tipos de testes de ELISA que são o iELISA indireto e o cELISA competitivo. O teste iELISA apresenta elevada sensibilidade, enquanto o teste cELISA apresenta maior especificidade que o primeiro, mas menor sensibilidade. O CFT é o teste confirmativo mais amplamente usado em PR, apesar da sua complexidade e da heterogeneidade das técnicas usadas (Adone & Pasquali 2011).

O ELISA competitivo é uma técnica rápida e prática que possibilita a distinção entre animais vacinados e não vacinados, porém é oneroso assim como o indireto (PAULIN 2003). É um teste usado em amostras de soro mas também pode ser aplicado em amostras de leite para detetar animais infetados, embora tenham menor sensibilidade quando aplicados a leite,

relativamente a amostras de soro. Esta baixa sensibilidade pode ser aumentada, aumentando a frequência de testagem. Não permite distinguir animais infetados de animais vacinados com Rev 1, em especial, os recentemente vacinados (Bagués *et al.* 1992) mas apresenta maior sensibilidade que os testes RB e CFT. A PCR é uma técnica complementar para o diagnóstico de brucelose a partir de material abortado, secreções do trato genital e excreções corporais, que deteta um segmento de DNA específico de *Brucella* spp. no material analisado, sendo considerada de alta sensibilidade e especificidade. (ELISEI *et al.* 2010).

## **4 Controlo e Erradicação da Brucelose em Animais**

### **4.1 Em Portugal**

A brucelose é uma doença de declaração obrigatória, fazendo parte do quadro nosológico anexo ao Decreto-Lei n.º 39209, de 13 de maio de 1953. As ações de luta contra a brucelose de PR em Portugal, iniciaram-se desde essa data através de campanhas de controlo da brucelose em caprinos, abrangendo, essa luta, ainda, os ovinos coabitantes.

Em 1992, e na sequência da entrada de Portugal em 1986 na então Comunidade Europeia, é aprovado o programa de erradicação da brucelose dos PR, por um período de três anos, sujeito posteriormente a aprovações anuais e que ainda se encontra em vigor, com as necessárias adaptações. Tem sido implementado em todo o território de Portugal continental, tendo sido elaborados programas especiais de vacinação em duas regiões onde se registaram maiores percentagens de animais e de explorações positivas, nomeadamente a área de Trás-os-Montes, pertencente à Região Norte (DSAVRN) e a toda a Região do Algarve (DSAVRAlgarve). O programa é elaborado para um período de vigência de 1 ano, com o objetivo de atingir uma diminuição gradual e sustentada da prevalência e incidência da doença, por forma a permitir alcançar a indemnidade do país, a médio prazo.

#### **4.1.1 Programa Especial de Vacinação em Trás-os-Montes**

As características de interioridade da região de Trás-os-Montes propiciam a criação de animais da espécie ovina e caprina, em contraste com a região mais litoral da DSAVRN, evidenciado pela proporção de animais existente numa e noutra, que é de 3 para 1, sendo a sua produção muito importante para a economia da região e para a prevenção do êxodo rural. Os sistemas de produção são extensivos, utilizando-se de forma generalizada o pastoreio de áreas comuns e por vezes exclusivamente de baldios, pois a figura do pastor sem terra é comum na região de Trás-os-Montes.

Em 2000 havia no território nacional 84.311 explorações com 3.159.381 PR e no ano 2012 existiam 64.327 explorações com 2.267.714 animais. Trás-os-Montes representa 16% do efetivo nacional, A estrutura da produção ovina e caprina em Portugal de 2000 a 2012 mostra um decréscimo no número das explorações e do respetivo efetivo animal. Os quadros 1 e 2, relativos apenas às explorações e animais abrangidos pelo programa de erradicação da região de Trás- os- Montes, comprovam essa tendência. No quadro 3 verifica-se que nesse período de tempo o número de explorações vacinadas diminui mas o número de animais jovens vacinados aumenta.

### Antecedentes da Evolução Epidemiológica da Doença em Trás-os-Montes

Ano	Nº total de expl. abrangidas pelo programa	Nº total de expl. rastreadas pelo programa	Nº de explorações Positivas	Prevalência nas explorações (%)
2008	5596	5499	492	8,9
2009	5710	5524	499	9,0
2010	5577	5262	409	7,7
2011	5256	5177	498	9,6
2012	5133	4995	446	8,9

Quadro 1 – Explorações (Fonte: DGAV )

Ano	Nº total de animais abrangidos pelo Programa	Nº total de animais rastreados	Nº de animais Positivos	Prevalência em animais (%)
2008	337440	329637	2063	0,63
2009	314758	320563	2420	0,75
2010	307502	309595	2795	0,9
2011	304146	301359	3005	1
2012	298403	290262	2749	0,95

Quadro 2 – Animais (Fonte: DGAV )

Ano	Nº total de explorações vacinadas	Nº total de animais adultos vacinados	Nº total de animais jovens vacinados
2009	4933	0	24618
2010	4000	0	29578
2011	3062	0	32660
2012	2814	0	33026

Quadro 3 – Vacinas (Fonte: DGAV )

A vacina tem sido de grande valor no melhoramento da condição sanitária dos rebanhos, pelo aumento da proteção imunitária dos animais e pela diminuição de excreção do agente para o ambiente. A vacinação só é efetuada em borregas e chibas, entre os 3 e os 6 meses de idade, em bom estado de desenvolvimento, sem sinais evidentes de situação debilitante (parasitismo, magreza, etc.) ou atividade sexual, e sorologicamente negativas à brucelose, em determinadas áreas epidemiológicas onde a prevalência da doença é elevada e abrange os rebanhos infetados e não infetados.

Através de edital, a vacinação torna-se obrigatória nas áreas de alta prevalência para a Brucelose dos pequenos ruminantes, nomeadamente nos concelhos onde a percentagem de efetivos infetados for superior a 2,5%. Assim, em Trás-os-Montes, a vacinação será realizada apenas a animais jovens entre os 3 e os 6 meses de idade, com a vacina Rev1, dose completa, via conjuntival (interdita por via subcutânea), em todos os rebanhos com animais elegíveis para vacinação independentemente da sua classificação sanitária (excetuam-se os rebanhos B3/B4 em regime especial, sem vacinação).

#### **4.2 Controlo do movimento animal**

Os animais devem, por lei, ser individualmente identificados por tatuagem ou marca auricular. O controlo do movimento animal entre explorações e especialmente de explorações ou regiões com elevada prevalência da doença é um princípio básico do controlo da doença animal e é uma necessária e eficaz medida. A aplicação de testes de pré movimentação reduz o risco de disseminação de brucelose entre explorações e serve indiretamente para avaliar a condição sanitária da exploração de origem. (European Commission 2009)

### **5 Vacinação**

Atualmente, a única vacina recomendada para proteger ovinos e caprinos contra *B. melitensis* é estirpe Rev.1. A sua administração é recomendada apenas em animais jovens e a vacinação conjuntival com Rev.1 é recomendada desde que não estejam gestantes (Olsen 2013). A vacinação efetuada nas condições indicadas promove imunidade vitalícia (Alton 1990).

As vacinas atuais são eficazes na prevenção do aborto e transmissão da brucelose, mas pobres na prevenção da infeção ou seroconversão. Além disso, podem induzir abortos em animais gestantes e são infecciosas para os seres humanos. O conhecimento atual sugere que ambas as respostas imunes (inata e adaptativa) podem contribuir para a imunidade contra agentes patogénicos intracelulares e que a ligação de estruturas do patógeno em recetores de reconhecimento padrão (PRRs) é crucial para o desenvolvimento de imunidade adaptativa. O fagossoma parece ser vital para a apresentação de antígenos às células T que conferem imunidade protetora (Olsen 2013). É uma vacina para PR, obtida a partir da atenuação de estirpe de *B. melitensis* lisa (S), virulenta (Elberg & Faunce 1957). A Vacina Rev 1 é uma ferramenta essencial para o controlo da brucelose em PR mas a administração via subcutânea (condições padrão) induz uma resposta sorológica duradoura que interfere com o rastreio sorológico subsequente. (Alton & MacMillan 1990). Este problema impede o seu atual uso em

programas combinados de vacinação, teste e abate, para a erradicação da brucelose. Por esse motivo, utiliza-se uma vacina administrada, por via conjuntival.

Recomenda-se vacinação massiva com Rev.1, administrada pela via Conjuntival, em animais não gestantes ou durante a época de partos (OIE 2008). A vacina viva atenuada, Rev.1, para uso em ovinos e caprinos, tem uma dose ótima e via de administração ideal, previamente estabelecidas (Barrio 2009). A vacina tem uma dose de  $(0,5-2) \times 10^9$  de organismos viáveis (OIE 2009). As várias limitações destas vacinas vivas atenuadas incluem a interferência com a sorologia, o efeito abortivo quando utilizado durante a gravidez, a virulência para os seres humanos, com risco de infecção para os veterinários ou agricultores aquando da ingestão de leite não pasteurizado (Blasco 2011).

Para contornar as limitações da vacinação com estirpes lisas (s), novas vacinas, com base em fenótipo rugoso (®), têm sido desenvolvidas, como as estirpes B115, de *Brucella Melitensis*, que foram avaliadas em animais de laboratório, mas não foram ainda testadas no campo (Adone 2011). Como resultado do seu fenótipo rugoso, estas vacinas não induzem formação de anticorpos reactivos a O-PS, inibindo, assim a sua interferência com testes serológicos de vigilância.

## **Parte II. Estudo da Brucelose dos Pequenos Ruminantes na DIV de Vila Real**

### **Estudo prático: fatores de risco de Brucelose em PR em explorações incidentes e prevalentes**

#### **1. Material e Metodologia**

Realizou-se primeiro um questionário dirigido a um conjunto de médicos veterinários (8), associados aos SVRN e das OPPs da mesma região, para detetar os fatores mais frequentemente relacionados com a introdução e manutenção da brucelose nas explorações, na perspetiva dos médicos veterinários contextualizados com o problema. Preparou-se e implementou-se um questionário para a recolha de dados de doze explorações, recorrendo aos SI, nomeadamente o PISA.net, Smartdocs, SNIRA, nos SV de Vila Real.

Os critérios de seleção das explorações foram os seguintes: exploração com PR, em situação de sequestro sanitário; exploração pertencente ao Distrito de Vila Real supervisionada

pelos SV de Vila Real; exploração pertencente a unidades epidemiológicas adequadas e em número suficiente para representar a região.

Os SI permitiram aceder ao histórico das 12 explorações dos três últimos anos (1 de Janeiro de 2012 a 1 de Janeiro de 2015), acerca da sua condição sanitária, isto é, sobre resultados dos controlos sorológicos (testes RB, FC), Isolamento bacteriano, animais vacinados, registo animal, datas de intervenção, intervalo teste sorológico e abate, datas de entrada de animais, entre outros. A recolha do item *entrada de animais na exploração*, limitou-se ao ano de 2014, período de análise para a elaboração do questionário de campo. Ainda em relação à *entrada de animais* foram consultadas as guias de circulação relativas a 2014.

O tratamento dos dados obtidos nos SI permitiu situar o domínio de incidência ou prevalência das explorações. Considerou-se que sempre que uma exploração passa de uma CS B3 para B2.1 é incidente ou recorrente. Nesta situação encontravam-se três explorações em estudo (EN15E, EN95S, ENI59). Oito explorações foram consideradas prevalentes.

Finalmente prepararam-se dois questionários para aferir a informação recolhida dos SI e interpretar as razões da incidência ou prevalência dessas explorações. Realizaram-se várias saídas às explorações, na companhia dos médicos dos SV que são responsáveis pela aplicação dos IE. Pretendeu-se validar a informação recolhida dos SI, complementando-a com a realidade observada. Este modelo de IE pretende contribuir para a melhoria dos questionários aplicados no campo, uma vez que introduz questões específicas consoante a classificação das explorações, incidentes ou prevalentes.

## 2. Resultados e discussão da análise dos dados

### 2.1. Questionário 1

Através da análise da informação obtida a partir dos oito questionários dirigidos a médicos veterinários da DSVRN e das OPPS, pretendeu-se aferir a importância de um grupo alargado de fatores de risco associados quer à introdução quer à manutenção da brucelose nas explorações de Trás-os-Montes e Alto Douro.

FATORES RISCO IDENTIFICADOS EM 8 QUESTIONÁRIOS A 8 VETERINÁRIOS DOS SVRN E OPPS REGIÃO NORTE	Introd, Total	Manut . Total
Contaminação a partir da vizinhança	3	0
Introdução de novos animais	18	12
Partilha de caminhos, pastos e baldios	12	7
Transumância	5	1
Pastagens/Terrenos contaminadas	6	4
Estrume contaminado	0	0
Camas e tecidos biológicos do parto contaminados	4	7

Densidade animal elevada	1	1
Mistura de animais	10	18
Diagnóstico difícil	6	3
Factores sociais, epidemiológicos e ecológicos	1	1
Falhas no abate	1	4
Falhas na lavagem e desinfecção locais/equipamentos	13	25
Falha na identificação individual	8	4
Falhas na vacinação	6	11
Repovoamento animal	1	3
Falha no controlo do movimento/ circulação animal	4	2
Falha na quarentena/sequestro/isolamento	3	5
Falhas no plano de erradicação/Governo	1	1
Atitude/mentalidade do produtor/comerciante	9	7
Falta cumprimento intervalo saneamento/prazos reinspecção	2	3
Não cumprimento do PNSA	4	1
Falha no controlo dos Inquéritos Epidemiológicos	3	3

Quadro 4: Fatores de Risco

O fator de risco, *contaminação a partir da vizinhança*, é apenas associado a explorações incidentes embora se esperasse um maior número de referências. A possibilidade de contacto com animais de explorações vizinhas, cujo estatuto sanitário é inferior a B3, é a grande questão colocada quanto a este fator de risco.

A *introdução de novos animais* é considerado um fator de grande peso em explorações incidentes e em prevalentes, embora de maior peso para a incidência.

O *empréstimo de reprodutores machos entre produtores, a aquisição de animais a negociantes, a entrada de cães pastores portadores bem como compra e venda ilegal de animais* são dos principais factores de risco identificados.

*Partilha de caminhos, pastos e baldios* foi frequentemente referido em explorações incidentes. Por um lado, seria de esperar resultados mais equilibrados entre incidência e prevalência, uma vez que na *partilha de caminhos, pastos e baldios* está associado outro fator de risco que é a *mistura de animais*, de grande peso na incidência e na prevalência. Por outro lado, havendo *mistura de animais*, pode haver introdução de animais seropositivos nas explorações, que tem um peso mais significativo em explorações incidentes, o que ajuda a explicar a maior referência deste fator na incidência.

*Transumância*, é um fator claramente referido quase sempre associado à incidência.

Quanto a *pastos, terrenos e estrume contaminados* os resultados aproximam-se na incidência e na prevalência. No entanto, seria de esperar um maior número de referências.

*Camas e tecidos biológicos do parto contaminados*, é frequentemente referido nos questionários como causa de prevalência.

A *densidade animal*, pouco destaque teve nas respostas dos questionários, em qualquer um dos contextos.

A *mistura de animais* é um fator de enorme peso, sendo referido, muitas vezes, mais em situações de prevalência do que em incidência. Os resultados registados estão de acordo com o esperado, dada a sua grande importância em ambas as situações.

As *falhas na quarentena/sequestro/isolamento de animais* e ainda *animais gestantes junto do resto do rebanho no período peri-parto* são comportamentos de risco muito referidos, como seria de esperar. Na questão do *diagnóstico da brucelose*, os resultados pendem claramente para a associação deste fator à incidência. Os resultados são compreensíveis, uma vez que os testes de diagnóstico são cruciais no momento da introdução de animais seropositivos numa exploração. Os resultados dos *fatores sociais, epidemiológicos e ecológicos* mostraram que estes fatores não tiveram grande impacto na seleção dos veterinários. Quanto a *falhas no abate*, foi consensual a sua identificação como um fator a ter em conta, sobretudo em contexto de prevalência. Não foi muitas vezes mencionado talvez porque o seu sucesso depende muito das entidades profissionais envolvidas no abate de animais positivos à brucelose. No entanto, foi possível perceber que as imposições legais associadas ao abate nem sempre são devidamente respeitadas. A maior tendência para identificar este fator do lado da prevalência é compreensível porque pressupõe a existência da doença na exploração.

*Falhas na lavagem e desinfeção de locais* foi frequentemente mencionado como causa de prevalência mas também referido em incidência, uma vez que vários aspetos relativos à higiene dos locais de parto nas explorações, foram contabilizados neste fator de risco. As *falhas na identificação individual*, foi mencionado com frequência, com maior peso em contexto de incidência. A *falha no registo de animais/documentação/guias de circulação* é um dos comportamentos de risco mais preocupantes neste capítulo e está intimamente relacionado com a *introdução de animais nas explorações* assim como com *falhas no controlo do movimento/circulação animal*.

As *falhas na vacinação* são um fator muito apontado nos questionários quer na incidência quer na prevalência, embora haja uma clara tendência para a prevalência. Este fator depende muito da eficácia na intervenção dos profissionais, como os médicos veterinários envolvidos na prevenção/erradicação da brucelose. Esperar-se-ia um maior equilíbrio nos resultados. A vacina é mais eficaz na prevenção da contaminação entre animais (por reduzir a excreção do agente para o ambiente) do que na prevenção da infeção animal.

O *repovoamento animal* não foi um fator destacado, tendo sido poucas vezes referido quer na incidência quer na prevalência. Seria de esperar a atribuição de um maior peso pelo

facto de haver nas explorações, com alguma frequência, repovoamentos ou reposição de animais não vacinados mas a explicação pode relacionar-se com outro fator, *introdução de novos animais*, e este ter sido preferido na seleção. Foi atribuído um maior peso na prevalência relativamente à incidência o que era de esperar, mas esperava-se um maior número de referências na questão da incidência, uma vez que o repovoamento de animais está associado à introdução de animais não vacinados. O grande comportamento de risco aqui mencionado está sobretudo relacionado com o *repovoamento de animais não vacinados* numa exploração.

*Falha no controlo do movimento/circulação animal* é um fator de risco moderadamente considerado com preferência na incidência uma vez que se considera estar relacionado com outros fatores de risco, que são *a introdução de animais numa exploração e falha de identificação ou registo animal* que, por sua vez, estão mais associados a incidência da brucelose nas explorações. A *falha da quarentena/sequestro/isolamento* registou um maior peso na prevalência, embora também fosse referido na incidência.

A *falha da responsabilidade ou cooperação do governo* foi raras vezes enunciado. Os resultados são compreensíveis uma vez que o financiamento para erradicação da brucelose tem sido feito, ao longo dos anos, com verbas satisfatórias. Atualmente já não há estímulo económico para que o produtor mantenha a doença na sua exploração, uma vez que as verbas para abate de animais são muito reduzidas, relativamente às do passado (antes do ano 2000) e as explorações ficam em sequestro e impedidas de vender produtos. As verbas diminuíram nos últimos anos devido à crise financeira europeia e mundial, mas, de acordo com os questionários, não foi associado este facto ao insucesso do programa de erradicação da brucelose.

Quanto à *atitude/mentalidade do produtor/comerciante* é perceptível que constitui um dos mais importantes fatores de risco, uma vez que é frequentemente referido, quer quanto à incidência quer quanto à prevalência.

A *falta de cumprimento dos intervalos de saneamento/prazos de reinspeção* foi poucas vezes referida na incidência ou prevalência, ainda assim, com maior expressão na prevalência. Não seria de esperar que esse fator contribuísse, pelo menos de forma significativa, para a incidência ou prevalência, uma vez que é da responsabilidade dos SV e das ADS/OPPs reduzir este fator. Porém, justifica-se, porque os prazos definidos por lei para as intervenções sanitárias nem sempre são cumpridos. As intervenções são normalmente realizadas a explorações prevalentes de brucelose.

Em relação ao *não cumprimento do PNSA*, é um fator a ter em conta e indicado algumas vezes, embora associado mais frequentemente à incidência. É um resultado esperado porque

o saneamento está diretamente ligado aos rastreios sorológicos e por isso, muito relacionado com o aparecimento e diagnóstico de novos casos de brucelose. Este fator também é importante em explorações prevalentes, sobretudo em contexto de reinspeções.

O facto de serem os produtores a custear todas as intervenções sanitárias poderá prejudicar a execução adequada do PNSA, na medida em que o número de intervenções sanitárias é reduzido. Este fator associado à *falha de identificação e registo animal* e também à *falha de controlo do movimento/circulação animal* agravam o problema. O *não cumprimento dos intervalos de saneamento animal* e dos *prazos de reinspeção* também são fatores diretamente associados à *falha de saneamento animal*.

A *falha no controlo dos IE* foi muitas vezes indicada tanto em incidência como em prevalência. A reduzida aplicação dos questionários que ocorre por sobrecarga de trabalho dos veterinários constitui um fator de risco. Apesar de haver opiniões que o consideram inútil, a grande maioria dos veterinários considera-os uma ferramenta bem elaborada, pensada e adaptada à realidade. Houve, inclusive, quem considerasse que se deviam fazer mais inquéritos de acompanhamento das explorações, após a determinação do sequestro sanitário. Seria de esperar que representasse um fator de risco mais vezes referido porque se trata de uma ferramenta de trabalho que permite o contato pessoal dos veterinários com os detentores das explorações, momentos importantes para alertar, aconselhar e consciencializar. Assim se diminui o impacto de outro fator envolvido que é *a mentalidade e falta de formação do produtor*.

## **2.2. Informação recolhida nos SI acerca da situação epidemiológica de 12 explorações de Trás-os-Montes**

A informação obtida divide-se em quatro grandes grupos, o primeiro com informação referente aos controlos sorológicos, o segundo relativo a vacinação e datas da última intervenção sanitária relativa ao ano de 2014, o terceiro grupo sobre entradas de animais nas explorações, durante o mesmo ano, e o quarto grupo sobre os animais positivos existentes nas explorações.

O primeiro grupo, *controlos sorológicos*, abrange todas as datas de intervenção de rastreios ao longo de três anos, 2012, 2013 e 2014. Registaram-se dados acerca dos testes RB, TFC, e Isolamento bacteriano, sobre animais considerados positivos e negativos, datas e motivos de todas as intervenções sanitárias, tempos de controlo colheita-resultado e resultado-abate, datas de sequestro e classificações sanitárias de todas as explorações, relativas a todas as datas de intervenção rastreadas, entre outros indicadores consideradas de interesse para o estudo (anexo I)

Relativamente aos fatores de risco, foi possível avaliar alguns deles, tais como, controlos sorológicos, taxa de cobertura vacinal, controlo do movimento animal e a relação entre vacinação e o número de animais abatidos. Registaram-se várias intervenções sanitárias em cada uma das explorações durante o período em estudo, nas quais se fizeram rastreios, vacinações, reinspeções e epidemiovigilâncias.

Registaram-se mudanças de CS ao longo do período em análise de acordo com os resultados sorológicos efetuados nas reinspeções. Quando numa exploração B3 se detetaram 1 ou 2 animais positivos, a exploração desceu de classificação, isto é, para B3S, (exemplo: ENJ26), tendo sido realizada uma reinspeção três meses depois do abate de animais positivos (exemplo reinspeção ENH13 de 13-08-2013). Sempre que nas explorações B3 se detetaram 3 ou mais animais positivos, a classificação desceu para B2 (exemplo: EN95S a 20-05-2014). Estas situações foram difíceis de se verificar de forma frequente por falta de dados suficientes nas grelhas dos SI. No entanto, esta informação foi completada com recurso ao histórico das CS das explorações.

Relativamente à classificação sanitária B2, não se observou subida da classificação sanitária em nenhuma das explorações. Em exploração B2, quando houve um resultado positivo numa das reinspeções, o prazo para a reinspeção seguinte foi de 2 meses, após o abate de animais positivos (exemplo: ENA53 em 13-11-2013). Nas explorações com CS B2.1 foram realizadas reinspeções negativas para subida de estatuto para B3 como é o caso da exploração EN15E em 4/02/2013 e da EN95S em 19-12-2012.

Na maioria das explorações (9) verificou-se uma descida de estatuto sanitário no período em análise. Sete das explorações enquadraram-se na situação não indemne infetada (B2.1), quatro não indemne (B2) e uma é indemne suspensa (B3S).

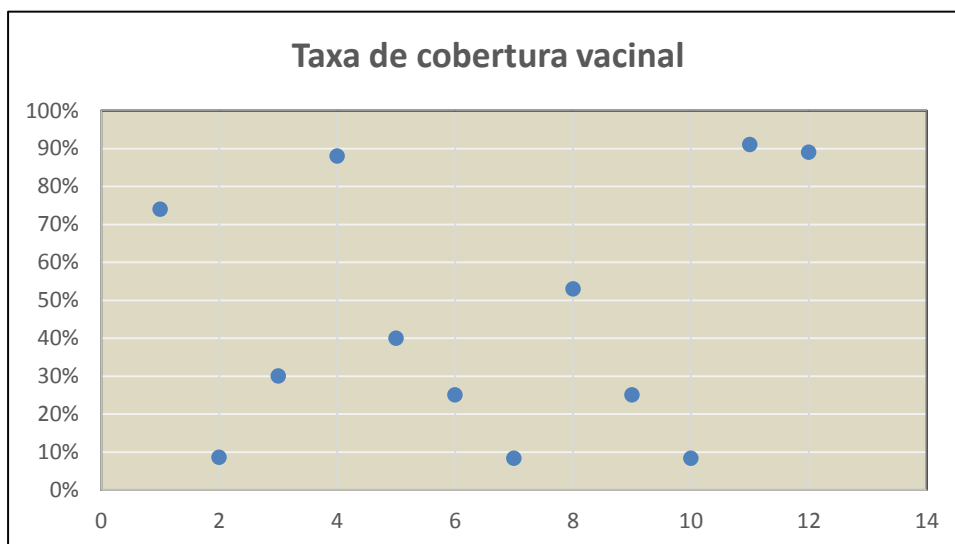
Nos efetivos indemnes B3, a positividade ao RB e à FC, determinou a positividade do animal. Nos animais positivos abatidos, foi realizado o exame bacteriológico, exceto se provenientes de um efetivo infetado B2.1.

Quando os resultados prejudicados do teste RB ultrapassam 50% do total de animais rastreados, a intervenção é inválida e implica a realização de nova colheita a todos os animais. Esta situação verificou-se na exploração EN0M4. Quando o número de prejudicados foi inferior a 50% do total de animais rastreados, não foi efetuada nova colheita aos animais com resultado prejudicado o que pode interferir na interpretação dos testes de diagnóstico como fator de risco (exemplo: ENC70).

A sensibilidade e especificidade dos testes serológicos são ideais, no entanto, por vezes, ocorrem interferências serológicas com vacina Rev1. É dado, por lei, um período de epidemiovigilância de 12 meses mas, após este período, os animais podem ainda acusar positivo à brucelose, o que revela que o período definido por lei poderá ser curto. Os métodos de ensaio em série e em paralelo, utilizados para a classificação dos animais em positivos/negativos, após os resultados serológicos, não seguem sempre um critério uniforme nas reinspeções (exemplo: para a mesma CS, B2, na EN53 em 3-10-2012 foi utilizado o método de ensaio em série e na ENJ80, em 30-12-2013, foi utilizado o método de ensaio em paralelo).

O programa de erradicação da brucelose dos PR determina que os abates sanitários dos animais suspeitos reagentes ou positivos à brucelose, sejam feitos o mais rapidamente possível e nunca além de 30 dias após a data de notificação oficial do proprietário.

Relativamente ao intervalo entre a data de notificação/sequestro e a data de abate dos animais constatou-se que, em todas as situações em que foi possível avaliar, o período nunca ultrapassou os 30 dias previstos na lei, verificando-se também que os abates são, na maioria das vezes, efetuados rapidamente, no próprio dia ou no dia seguinte à data de notificação. O abate sanitário é determinado pela positividade ao teste do RB ou da FC, de acordo com o estatuto sanitário dos efetivos e a condição de animais vacinados ou não. Esta condição foi sempre respeitada.



**Gráfico 1: Taxa de cobertura vacinal nas 12 explorações em estudo – 2014**

No segundo grupo de *animais vacinados verificou-se que:*

A taxa de cobertura vacinal, relativa à última data de intervenção no ano de 2014, apresentou-se relativamente baixa. Num universo de doze explorações, apenas 1/3 apresenta taxa superior a 70%, e 50% das explorações apresenta uma taxa de cobertura vacinal igual ou inferior a 30% (gráfico 1). As falhas de vacinação são um fator de risco importante a considerar.

Transportador/Comerciante A

Marca da exploração	Destino		Total
	EN15E	ENI59	
EA49G		10	10
EC21A		3	3
EF03B		21	21
EF07T		10	10
EF17A		4	4
EF23Z		11	11
EF89T		15	15
EF90B		10	10
EH42P		11	11
EH93I		5	5
EH97D		10	10
EH98C		1	1
EK370		5	8
EK58D		7	7
EK89T		10	10
EN15E			14
ENJ79		5	5
<b>Total Geral</b>		<b>138</b>	<b>22</b>

Quadro 5 Trânsito Animal

No terceiro grupo de *trânsito animal* verificou-se que:

O *repopoamento das explorações* foi efetuado com animais provenientes de explorações indemnes ou oficialmente indemnes, embora não fosse possível verificar se foram realizados os testes de pré-movimentação em animais não vacinados porque não foi possível aceder a esses documentos. Segundo a legislação vigente os novos animais introduzidos têm que vir acompanhados de guias de circulação e certificado sanitário veterinário que comprovem a realização dos testes de pré-movimentação.

A recolha da informação relativa a *vacinação de animais entrados* nas explorações constitui um fator de risco, uma vez que se considera apenas a CS das explorações de origem desses animais e o seu estado vacinal. Isto poderia ser controlado através da aplicação de testes de pré-movimentação em PR, para não vacinados e vacinados. A permissão ilimitada das movimentações logo que é atribuída uma classificação B3 aumenta o risco de brucelose nas explorações. A atribuição de 1 só classificação indemne B3 parece ser insuficiente porque pode ter resultado de 1 erro de avaliação.

Constitui ainda um factor de risco acrescido quando o proprietário/produtor de uma exploração é simultaneamente transportador/comerciante, como é o caso do detentor da exploração EN15E (quadro 5), que é responsável pela introdução de animais provenientes de 17 explorações diferentes na sua exploração bem como na ENI59. Sendo a exploração EN15E incidente e sendo a introdução de animais um dos fatores de risco de grande peso, senão o maior, esta situação poderá explicar a origem do problema nesta exploração. Este transportador/comerciante é responsável por grande parte das movimentações animais registadas nas explorações em estudo e constitui um exemplo do que é a prática comum na região.

Contagem de Identific Animal										
Marca de exploração	NVAC				NVAC Total	Vac			Vac Total	Total Geral
	AAC	N	P	(em branco)		AAC	N	P		
EN0M4	1	4	1		6		4		4	10
EN0M5		1	8		9		2		2	11
EN15E			3		3					3
EN95S			20		20					20
ENA45	3	5	39	1	48	1	3		4	52
ENA53							1	2	3	3
ENC70		7	17		24					24
ENH13		1	3		4					4
ENI59			18		18					18
ENJ26							1		1	1
ENJ80			21		21					21
ENN30		2	15		17		1		1	18
<b>Total Geral</b>	<b>4</b>	<b>20</b>	<b>145</b>	<b>1</b>	<b>170</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>12</b>	<b>15</b>	<b>185</b>

#### Quadro 6 Animais positivos

Em relação ao quarto grupo, *animais positivos*, verificou-se que:

Os efeitos da vacinação não se expressam nos resultados apresentados no quadro 6, isto é, esperar-se-ia que ao número de animais vacinados correspondesse um menor número de animais positivos relativamente aos não vacinados. Alguns resultados poderão dever-se ao facto de haver vários animais positivos resultantes da interferência dos anticorpos vacinais, após vacinação. O período de epidemiovigilância é de 12 meses, porém, após este período poderá haver, durante algum tempo, interferência vacinal nos resultados serológicos.

A maior parte dos animais abatidos positivos são não-vacinados. A taxa de animais vacinados é baixa. O histórico individual de vacinação e de controlos sorológicos dos animais foi difícil de aceder no período estabelecido para a realização deste trabalho, uma vez que o modo como a informação está tratada nos SI dificulta a sua consulta. Os SI privilegiam o registo e tratamento de dados na perspetiva da exploração e não do animal. Por esta razão, relativamente a testes sorológicos, só foi possível consultar o último resultado de RB e FC, por

animal, através das folhas de campo. Estas deveriam conter mais registos referentes ao histórico de cada animal. Aqueles, se existissem, poderiam minimizar os efeitos de um dos maiores fatores de risco nas explorações incidente (sobretudo) ou prevalente que é a *introdução de animais*. A situação agrava-se sobretudo quando a passagem da informação envolve OPPs, e SV uma vez que os SI são independentes e não se verifica o cruzamento de dados como seria desejável.

### **2.3. Informação recolhida nos Questionários de Campo dirigidos às explorações**

A informação relativa ao efetivo presente na exploração confirma genericamente a informação existente nas bases de dados dos SI. Quanto a este assunto devem ser realçados os seguintes aspetos:

A validação da informação recolhida nos SI foi difícil uma vez que muitos dos animais se encontravam a pastar. As explorações, embora registadas em nomes/detentores diferentes, na prática, são tratadas como um todo, funcionando como uma única exploração, como é o caso de um conjunto de 3 e de outro com 2 explorações, diferindo no número do efetivo animal. Isto significa que os fatores de risco existentes em cada um desses conjuntos são exatamente os mesmos, funcionando como uma unidade epidemiológica.

Na *aptidão produtiva*, todos os animais, quer ovinos quer caprinos, são de carne e o regime de produção é extensivo.

Na *identificação animal* num significativo número das explorações (7) não foi possível observar e confirmar se os animais estavam integralmente identificados e bem identificados por se encontrarem a pastar. Em relação às explorações onde foi possível observar essa questão, num total de (5) explorações, todos os animais estavam integral e corretamente identificados.

Quanto à *perda de brincos e brincos espalhados nos terrenos ou estábulos*, não é muito frequente acontecer, porém, foi evidente, em todas as explorações, uma certa preocupação em denunciar estes casos aos médicos veterinários das ADS, mas apenas quando estes se deslocam às explorações, o que acontece com uma frequência mensal, sendo nessa altura reidentificados. Seria benéfico para a melhoria do sistema de identificação e reidentificação, observar diretamente todos os animais, partindo da consulta da listagem do SNIRA, existente desde 2010 (Regulamento CE 21/2004 de 17 de Dezembro de 2003), para pequenos ruminantes, e confirmar a sua presença ou ausência. O chip de identificação eletrónica veio reforçar a identificação dos animais, a partir de 2010, sobretudo em situações de ausência de brinco de identificação, através da aplicação de um bolo reticular pela boca, método que, por si

só, se pode revelar insuficiente para identificar os animais. Esta situação foi demonstrada por um proprietário de uma das explorações que identificou o chip de um dos seus animais, na terra, após o animal o ter regurgitado.

Os registos e informações, bem como as guias de circulação e demais declarações realizadas pelos detentores ao SNIRA, devem ser conservados por um período mínimo de 3 anos e apresentados à autoridade competente quando por esta solicitada. Estes documentos encontram-se, na maior parte dos casos, nos Centros de Agrupamento Agrícola, o que inviabilizou a sua consulta nas visitas efetuadas às explorações, apenas uma delas reunia alguns documentos.

Todas as explorações visitadas se dedicam à venda de carne exclusivamente, sempre que a sua classificação o permite, havendo quase sempre autoconsumo deste produto pelos detentores das explorações e dos animais.

Relativamente a *compradores e recolhedores da exploração* esta informação apenas foi possível tratar a partir da consulta das guias de circulação de animais, por desconhecimento dos produtores, e sobretudo porque as explorações se encontravam em sequestro e proibidas de vender a sua carne para comércio, exceto para os matadouros. Porém, nos últimos 3 anos, algumas delas obtiveram períodos de levantamento do sequestro sanitário, o que lhes permitiu a livre circulação de venda e compra de animais. Sempre que um animal é considerado positivo após o conhecimento do resultado dos exames de laboratório, o animal é vendido para matadouro por um valor de compensação residual para o produtor. Se os animais não forem considerados positivos aos testes de laboratório mas pertencerem a explorações em sequestro, podem ser vendidos exclusivamente para matadouros, abaixo dos valores normais de mercado praticados para animais de explorações com CS B3 ou B4. Se a exploração for B3 ou B4 os valores comerciais de carne são os mais altos do mercado, correspondendo ao valor comercial real do animal, podendo ser negociado com qualquer pessoa ou entidade, inclusive, para matadouros. Estes valores revelam que os produtores interessados em produção animal têm um grande prejuízo. A partir da publicação do Despacho conjunto 530-2000, do Diário da República, relativo a indemnizações, os produtores interessados em produção animal com rebanhos e explorações afetados com brucelose têm tido prejuízos muito significativos, quer por perdas na produção animal quer pelas indemnizações por animal considerado positivo abatido. Atualmente, apenas os produtores menos preocupados com a produção e sanidade animal e interessados em manter as indemnizações atrativas, inerentes à criação e manutenção de raças autótonas, poderão ter interesse em manter a brucelose na sua exploração.

Quanto à *afeção da brucelose em humanos*, nas pessoas detentoras das explorações/familiares que contactam diretamente com animais ou com produtos alimentares derivados, acontece com facilidade ocorrer brucelose, o que foi comprovado em algumas explorações (5). Os profissionais de saúde, como os veterinários também estão expostos à doença. As explorações dedicam-se apenas à venda de carne e não de leite e derivados. Nenhuma apresenta qualquer sistema de refrigeração na sua exploração. Daí a higiene em torno da ordenha não ser, neste contexto, fator de risco.

Os cordeiros e/cabritos são alimentados exclusivamente com leite de animais da própria exploração, sem tratamento térmico. Nesta situação pode ser considerado fator de risco porque de acordo com o Regulamento (CE) nº 853/2004, de 29 de Abril do Programa de erradicação da brucelose em PR em Trás-os-Montes, o leite de animais positivos, nos efetivos infetados, só pode ser utilizado por animais da mesma exploração após tratamento térmico adequado.

Relativamente a questões relacionadas quer com *controlos sorológicos* quer com a questão das *vacinações dos animais*, a informação foi recolhida a partir dos SI uma vez que a validação dessa informação foi impossível de obter, quer pelo desconhecimento do proprietário quer por não terem frequentemente em sua posse os documentos ou registos de existências e deslocações de ovinos e caprinos (RED) nas suas explorações por se encontrarem normalmente em Centros de Agrupamento Agrícolas, às quais os produtores pertencem.

Quanto à vacinação apenas se pode obter uma informação fidedigna recorrendo aos dados dos PISA.net, sendo que, em contexto de campo, é possível realçar que todos os animais jovens são obrigatoriamente vacinados para a brucelose, entre os 3 e os 6 meses de idade.

Quanto à *cobertura vacinal* das explorações foi possível verificar, como seria de esperar, que todos os animais jovens encontrados com menos de 3 meses ainda não se encontravam vacinados. Verificou-se que o número de animais jovens é reduzido sendo a maioria, adultos, com mais de 6 meses. Nestes, a taxa de cobertura vacinal é geralmente bastante baixa o que não seria de esperar uma vez que todos ou praticamente todos os animais são posteriores à data de obrigatoriedade de vacinação. Esta situação poderá dever-se ao facto das intervenções sanitárias, como a vacinação Rev1, serem custeadas pelos produtores que preferem esperar por uma intervenção das OPPs para o fazer. Esta situação é agravada pela existência do preconceito de que a vacina tem baixa eficácia e é causa de inoculação de doença. Os animais com 6 meses ou mais que não foram vacinados anteriormente, não são vacinados. Para além disso há, muitas vezes, desconhecimento de existência de animais com idade entre os 3 e os 6 meses de idade por vacinar, uma vez que só são identificados a partir

da data da vacinação, não apresentando qualquer brinco ou identificação electrónica ou registo na base de dados. Isto é permitido por lei porque a identificação dos animais deve ser realizada até aos 6 meses de idade, a partir do nascimento do animal, e mesmo até aos 9 meses em explorações em regime extensivo ou ao ar livre, situação em que se encontram as 12 explorações. Esta questão é problemática porque permite o contacto direto destes animais jovens, ainda à espera de serem vacinados com adultos da mesma exploração, sem qualquer isolamento animal, sendo alimentados com leite de animais da própria exploração. Normalmente os animais adultos vão de dia para o monte pastar, ficando os jovens na exploração mas, quando o rebanho vem dos pastos, junta-se aos pequenos no mesmo espaço, sem quaisquer restrições.

A questão dos *abortos* nas explorações é uma constante praticamente em todas estas explorações, com um número representativo de abortos e mortalidade neonatal, nos últimos 12 meses, contribuindo para agravar a presença efetiva de brucelose, dado que constituem sinais sugestivos da doença nas explorações. Está prevista a obrigatoriedade da notificação, por parte dos detentores dos animais, de todos os abortos ocorridos em fêmeas das espécies ovina e caprina (artigo 7º do Decreto-Lei nº 244/2000 de 27 de Setembro). Através dos questionários foi possível verificar que os proprietários não notificavam no prazo legal a ocorrência desses abortos aos médicos veterinários das OPPs, fazendo-o apenas aquando da intervenção sanitária seguinte.

Quanto à *higiene da exploração* constatou-se que, em todas as explorações, se praticam a limpeza e a desinfeção. Onde há estrume, há limpeza e desinfeção, quase sempre com creolina, lixívia ou cal. A frequência de limpeza é muito elevada e a desinfeção é geralmente satisfatória, com frequência de pelo menos 1 a 2 vezes por ano até 3 vezes ou 4 vezes por ano. A higiene e limpeza são feitas em qualquer local do estábulo onde há estrume, como no chão do estábulo e, mais raramente, nas paredes.

A higiene das camas é efetuada com limpeza e remoção de estrumes, com frequência bastante variada, de 2x por mês a 4/5/6 x por ano, com exceção de duas das explorações que apenas o faz 2x a 3 por ano. Existem práticas diferentes de limpeza de camas nas explorações, enquanto umas adotam o sistema de remoção total do estrume, outras, adicionam mato seco ao estrume, removendo-o ao fim de várias camadas. O estrume é normalmente destinado para pastos e também para biofertilizante.

As medidas de higiene aplicadas a visitantes da exploração não se praticam em qualquer das explorações. A condição de higiene das explorações é geralmente razoável / boa, entre 3 e 4, numa escala de 1 a 5.

Quanto a *condições de higiene dos animais* há que referir que na maioria das explorações não foi possível observar os animais adultos da exploração por estarem no pasto/monte, no entanto, foi possível observar os animais mais jovens. As condições de higiene eram visivelmente boas, variando entre 4 e 5. As *condições de isolamento* dos animais seropositivos das explorações são quase inexistentes, estas não estão preparadas para o fazer.

Os comedouros encontraram-se em condições de higiene aceitáveis com limpeza frequente. A sua desinfeção não é efetuada em qualquer exploração. Os bebedouros poucas vezes se encontraram uma vez que os animais recorrem a cursos de água que atravessam as explorações. Identificaram-se alguns baldes que serviam de bebedouros.

A água da bebida dos animais tem origem em nascentes, rios, riachos, ribeiros, mas em algumas explorações verificou-se o uso de água da companhia/rede. Sempre que os animais fazem deslocções para fora das explorações, para pastos, baldios ou caminhos comuns, eventualmente transumâncias, raras nestas explorações, é previsível que os animais tenham acesso a águas contaminadas como charcos, ou qualquer reservatório de água estagnada ou mesmo bebedouros públicos para animais.

À exceção de uma ou outra situação, os partos são frequentemente não sazonais, podendo ocorrer em qualquer altura do ano. O cuidado de assistência aos partos apenas acontece quando o produtor se apercebe dessas situações na sua própria exploração, sendo inexistente sempre que os animais parem no monte.

O *isolamento das fêmeas* não se realiza antes do parto. Quando o produtor se apercebe do momento do parto, é normal manter as fêmeas gestantes e as suas crias afastadas durante uns dias do resto dos animais, sobretudo para assegurar a sobrevivência desses animais que estão naturalmente vulneráveis, mas as explorações não reúnem condições logísticas para fazer esta separação.

O destino dado às *secundinas/libertinas/abortos* é frequentemente o enterro, por vezes acompanhada de destruição química, com adição de cal branca e/ou sulfatos, sobretudo a uma boa profundidade para que não sejam farejados e desenterrados. Todavia, em situações de diálogo com os proprietários das explorações, foi possível perceber alguma despreocupação relativamente ao destino deste material orgânico e também o desconhecimento sobre a importância da recolha e tratamento deste material de forma a impedir o contacto deste material com outros animais, incluindo cães pastores. Muitos partos ocorrem no monte e o destino das secundinas é a sua ingestão pelos outros animais.

Quanto à *reposição do efetivo reprodutor*, nomeadamente fêmeas, é praticamente feito por autoreposição de animais vacinados. A reposição do efetivo reprodutor masculino tem origem geralmente na própria exploração. Embora muito rara, também se constatou a prática de animais reprodutores emprestados, assim como a compra desses animais em mercados e feiras.

O *contacto com animais de outras explorações* está dependente da condição geográfica das próprias explorações e do seu grau de isolamento. Será improvável ou fortuito se as explorações estiverem isoladas, porém, em boa parte das explorações visitadas, é normal haver contacto com explorações vizinhas.

*Os pastos, os baldios, os caminhos comuns, a indefinição dos limites das explorações bem como a falha nas vedações* são os fatores de risco mais frequentemente identificados. Mesmo quando existem vedações entre as explorações são muitas vezes falíveis porque os pequenos ruminantes conseguem, muitas vezes, saltar por cima delas. O tipo de contacto é por norma accidental e/ou pouco frequente e as espécies entre as quais há contacto são entre PR, tanto ovinos como caprinos e ocasionalmente bovinos. A transumância é muito rara, aliás em apenas uma das explorações estudadas se constatou haver transumância. Por este motivo não pode ser vista como um fator de risco relevante.

O *contacto direto com animais silváticos* verificou-se bastante provável através de ataques de rebanhos, por serem espécies existentes em número significativo na região, tais como, raposas, javalis, lobos e cães bravos/vadios.

Os cães pastores existem em todas as explorações e estão registados, mantendo-se em contacto constante com os rebanhos e com os locais do parto, como as lojas, por exemplo. Não são feitos quaisquer controlos sorológicos aos cães pastores apesar destes poderem funcionar como reservatórios de brucelose, constituindo assim um fator de risco acrescido.

*A movimentação animal, os pastos e terrenos baldios em comum* são fatores de peso, ainda mais se se considerar que uma grande parte dos rebanhos fazem parte de explorações com classificação sanitária inferior a B3. O controlo do movimento animal feito pelos seus proprietários também parece ser reduzido.

*A inseminação artificial e transferência embrionária* não se praticam sendo a monta natural o único método de reprodução.

*A mentalidade dos produtores* é um importante fator de risco. Esta constatação foi evidente no contacto pessoal estabelecido e nos registos oficiais consultados, tendo-se verificado muita incoerência e falta de conhecimento nos produtores ou naqueles que os representavam. O

problema da brucelose só poderá ser resolvido em conjunto, com a participação útil de todas as entidades envolvidas, produtores, serviços veterinários, OPPs. Durante a realização dos questionários aos detentores foi perceptível que estes ao relatarem o que realmente se passa têm a consciência de poder incorrer em processos de contra-ordenação e/ou crime, o que os pode colocar em situações delicadas, levando-os a omitir a verdade.

A *baixa escolaridade dos detentores* das explorações é também evidente o que dificulta que estes se consciencializem do problema e que o enfrentem com a atitude e comportamento adequados. Deve haver, por parte dos SV, uma maior preocupação em fornecer informação útil, dar formação aos produtores acerca da doença, dos fatores de risco e alertar para os seus efeitos em termos de saúde pública e na produção animal.

### 3. CONCLUSÃO

De acordo com os médicos veterinários (Questionário I), os principais fatores de risco, em termos absolutos, associados à incidência da brucelose são a *introdução de novos animais, a partilha de caminhos, pastos e baldios, a mistura de animais e as falhas na lavagem e desinfeção locais/equipamentos* e para a prevalência são os seguintes: *a introdução de novos animais, a partilha de caminhos, pastos e baldios, a mistura de animais, falhas na lavagem e desinfeção locais/equipamentos e as falhas na vacinação*. No entanto, em termos relativos, os fatores de risco na origem da incidência são *a contaminação a partir da vizinhança, a introdução de novos animais, a partilha de caminhos, pastos e baldios, a transumância e a falha na identificação animal*. Os fatores de risco na origem da prevalência, em termos relativos, são *as camas e tecidos biológicos do parto contaminados, a mistura de animais infetados e animais não infetados, as falhas no abate, as falhas na vacinação e a falta do cumprimento dos intervalos saneamento/prazos reinspeção*.

No grupo, vacinação das explorações, foi possível registar a baixa taxa de cobertura vacinal, o que revela que a falha da vacinação constitui, por si só, um fator de risco. Revela-se importante aumentar a frequência de vacinação nas explorações 3 a 4 vezes por ano, em vez de 1, para aumentar a probabilidade de abranger todos os animais jovens entre os 3 e os 6 meses de idade.

Em relação ao grupo, trânsito animal, verificou-se que é respeitada a classificação sanitária da exploração de origem dos animais, no entanto, esta condição não é suficiente no controlo da entrada da brucelose nas explorações.

A origem dos animais que entram nas explorações deve ser pouco diversificada, para que a informação sanitária seja mais fácil de aceder, o que fará aumentar a confiança nas transações comerciais. A história e o perfil serológico dos animais da exploração de origem deve complementar os resultados serológicos dos animais a adquirir.

A aquisição de animais, em certos casos, embora respeite a lei da livre circulação e movimentação de animais é feita ou pode ser feita a explorações B3 que apresentam um historial problemático de brucelose. Há produtores detentores de explorações com problemas de prevalência de brucelose que são simultaneamente transportadores/comerciantes de animais. Uma e outra contribuem para o agravamento da situação.

Quanto ao grupo de animais positivos, a baixa taxa vacinal verificada nas explorações contribui para a disseminação da doença na região.

Relativamente aos questionários de campo dirigidos às explorações foi possível introduzir uma nova apresentação de questionários, distinguindo explorações incidentes e explorações prevalentes. Os questionários elaborados cobrem um leque alargado de fatores de risco, o que poderá contribuir para a melhoria dos questionários atualmente aplicados. Apresentaram-se um pouco extensos e densos, sendo necessário efetuar reajustamentos para os adequar à realidade.

A melhoria dos Programas de Erradicação da Brucelose deve passar pela aplicação mais frequente de IE atualizados, dirigidos a explorações incidentes e prevalentes, e por um plano sanitário de prevenção de fatores de risco que seja mais eficaz na vacinação e no controlo da movimentação animal, por forma a diminuir gradualmente quer a incidência quer a prevalência, permitindo alcançar a indemnidade do país, a médio prazo

## V. Bibliografia

Acha P, Szyfres B (2003) **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals Bacteriosis** Third edition, 40-67

Ackermann M R, Cheville NF, Deyoe BL (1988) "Bovine ileal dome lymphoepithelial cell endocytosis and transport of *Brucella abortus* strain 19" **Vet. Pathol.** **25**, 28–35

Adams LG (2002) "The pathology of brucellosis reflects the outcome of the battle between the host genome and the *Brucella* genome" **Vet. Microbiol.** **90**, 553–561

Adone R, Pasquali P (2013) "Epidemiological surveillance of brucellosis" **Rev.sci.tech.Off.int.Epi** **32**(1), 199-205

Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM (1988) **Techniques for the brucellosis laboratory** 1<sup>st</sup> edition. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique

Aparicio D (2013) "Epidemiology of brucellosis in domestic animals caused by *Brucella melitensis*, *Brucella suis* and *Brucella abortus*" **Rev.sci.tech.Off.int.Epi.** **32**(1),53-60

Baldi PC, Giambartolomei GH (2013) "Pathogenesis and Pathobiology of zoonotic brucellosis in humans" **Rev.sci.tech.Off.int.Epi.** **32**(1), 117-125

Blasco JM (2010) **Control and eradication strategies for *Brucella melitensis* infection in sheep and goats.** *Prilozi*,**31**, 145–165

Blasco JM (2011) "Control and eradication of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats" **Vet. Clin. N. Am**, **27** (1), 95–104

Bruce D (1887) "Note on the discovery of a microorganism in Malta Fever" **Practitioner**, **39** (3), 161–170

"Caprine and Ovine Brucellosis (excluding *Brucella ovis*)" **OIE Terrestrial Manual 2009**

Carvalho Neta AV, Mol JPS, Xavier MN, Paixão TA, Lage A.P Santos R.L (2010) "Pathogenesis of bovine Brucellosis" **Vet. J.** **184**, 146–155

Celli J, Gorvel JP (2004) "Organelle robbery: *Brucella* interactions with the endoplasmic reticulum." **Curr. Opin.Microbiol.** **7** (1), 93–97

Corbel MJ (2006) "Prevention, control and eradication of Brucellosis in animals" **Brucellosis in humans and animals**, 57-66

Crawford R (1990) "Epidemiology and surveillance *In* Animal brucellosis" **CRC Press**, Boca Raton, Florida, 131–151

Decreto-Lei nº 24422000 de 27 de Setembro de 2000

Despacho conjunto 530-2000 de 16 de Maio de 2000

“EU summary report on zoonosis, zoonotic agents and food-borne outbreaks 2010” **EFSA Journal 2012**; 10(3):2597

Godfroid J, Nielsen K, Saegerman C (2010) “Diagnosis of Brucellosis in Livestock and Wildlife” **Rev.sci.tech.Off.int.Epi** 32(1), 296-305

Hinić V., Brodard I., Petridou E., Filioussis G., Contos V., Frey J, Abril C (2012) “Brucellosis in a dog caused by *Brucella melitensis*. Rev 1” **Vet. Microbiol.** 141 (3–4), 391–392

Kahler SC (2000) “*Brucella melitensis* infection discovered in cattle for first time, goats also infected.” **J. Am. vet. med. Assoc.** 216 (5), 648

Madkour M (1989) “Pregnancy and brucellosis. *In Brucellosis*” Butterworths, London, 11–25

“Manual de Procedimentos para a Classificação Sanitária dos Efectivos” **Direcção geral de Veterinária**

McGiven JA, (2013) “New developments in the immunodiagnosis of brucellosis in livestock and wildlife” **Rev.sci.tech.Off.int.Epi.** 32(1), 163-176

Olsen S.C (2013) “Recent developments in livestock and wildlife brucellosis vaccination” **Rev.sci.tech.Off.int.Epi.** 32(1), 207-217

Poester FP, Samartino LE, Santos RL (2013) “Pathogenesis and Pathobiology of brucellosis in livestock” **Rev.sci.tech.Off.int.Epi.** 2013, 32(1), 105-115

“Programa de Erradicação da Brucelose dos Pequenos Ruminantes” **Direcção geral de Veterinária**

Racloz V, Schelling E, Chitnis N, Roth F, Zinsstag J (2013) “Persistence of brucellosis in pastoral systems” **Rev.sci.tech.Off.int.Epi.** 32(1), 61-70

Regulamento CE 21/2004 de 17 de Dezembro de 2003

Regulamento (CE) nº 853/2004, de 29 de Abril

Schols HC, Vergnaud G (2013) “Molecular characterization of *Brucella* species” 32(1), 149-162

“Scientific Opinion on Performances of Brucellosis Diagnostic Methods for Bovines, Sheeps and Goats” **The EFSA Journal (2006)** 432, 1-44

Skendros P, Boura P (2013) "Immunity to brucellosis" *Rev.sci.tech.Off.int.Epi.* 32(1), 137-147

Tome B, Dufour B, Bénét JJ, Ellis P, Moustou F **Epidemiologie Apliquée à la lute collective contre les maladies animales transmissibles majeures**, 228-231

Treanor JJ (2013) "Integrating ecology with management to control wildlife brucellosis" *Rev.sci.tech.Off.int.Epi.* 32(1), 239-247

Wyatt HV (2013) "Lessons from the history of brucellosis" *Rev.sci.tech.Off.int.Epi.* 32(1), 17-25

Xavier MN, Paixão TA., Poester FP, Lage AP, Santos RL (2009) "Pathological, immunohistochemical and bacteriological study of tissues and milk of cows and fetuses experimentally infected with *Brucella abortus*" *J. comp. Pathol.* 140 (2-3), 149-157

<http://www.spmi.pt/revista/vol10/vol10-n2-brucelose.pdf> Acedido a 27 de Novembro de 2014

<http://www.dgv.minagricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=18457&generico=18471&cboui=18471> Acedido a 2 de Dezembro de 2014

<http://www.oie.int/> Acedido a 10 de Dezembro de 2014

<http://www.dgv.minagricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=20291&cboui=20291> Acedido a 15 de Dezembro de 2014

[http://web.oie.int/boutique/index.php?page=ficprod&id\\_produit=1184&fichrech=1&lang=en](http://web.oie.int/boutique/index.php?page=ficprod&id_produit=1184&fichrech=1&lang=en)

Acedido a 16 de Dezembro de 2014

<http://www.efsa.europa.eu/en/publications/supporting.htm> Acedido a 16 de Janeiro de 2015

<http://www.efsa.europa.eu/de/search/doc/2597.pdf> 1,3 Acedido a 20 de Janeiro de 2015

<https://mail.google.com/mail/u/0/#inbox/14b25f2bbd53b4da?projector=1> Acedido a 20 de Janeiro 2015

[www.efsa.europa.eu/efsajournal](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal) 3 Acedido a 20 de Fevereiro de 2015

<http://www.efsa.europa.eu/it/scdocs/doc/432.pdf> Acedido a 20 de Fevereiro de 2015

[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.07.02\\_CAPRINE\\_OVINE\\_BRUC.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.07.02_CAPRINE_OVINE_BRUC.pdf) Acedido a 20 de Fevereiro de 2015

## ANEXOS

### **Anexo I - Questionário dirigido a Médicos veterinários dos SVRN e OPSS**

**Objetivo:** Deteção de fatores de risco associados à introdução e manutenção da brucelose, de pequenos ruminantes, em explorações da região de Trás-os-Montes e Alto Douro.

Número de perguntas: 10 abertas; 8 fechadas

Duração: cerca de 30 minutos

Nome:

Cargo/função:

Local trabalho:

e-mail/tel:

#### **Perguntas abertas/qualitativas:**

- 1- Fatores que levam à introdução da brucelose, atualmente, numa exploração.
- 2- Fatores que levam à manutenção da brucelose, atualmente, numa exploração?
- 3- Quais os principais fatores de risco que, no dia-a-dia, preocupam verdadeiramente um veterinário?
- 4- Na sua opinião, é possível tratar separadamente os fatores de risco, associados a uma nova infeção na exploração, uma reinfeção na exploração e uma persistência da infeção na exploração?
- 5- Qual a sua opinião acerca dos actuais Inquéritos Epidemiológicos aplicados, no âmbito da brucelose de pequenos ruminantes, tendo em conta o contexto das explorações de Trás-os-Montes?
- 6- O que alteraria nesses Inquéritos Epidemiológicos, tendo em vista uma melhoria no apuramento das causas do aparecimento e manutenção da brucelose em pequenos ruminantes em Trás-os-Montes?
- 7- Acha que há fatores com importância que deveriam ser acrescentados?
- 8- Qual a postura e a atitude dos produtores face ao problema da brucelose?
- 9- Na erradicação da brucelose intervêm os serviços oficiais, as OPP, os laboratórios, os produtores entre outras diversas entidades, gostava de saber como estas entidades têm contribuído para o sucesso da erradicação.
- 10- Em que sentido considera que as OPP e os serviços veterinários podem contribuir ou intervir para a prevenção do aparecimento de novos casos de brucelose e/ou manutenção dos mesmos?

**Perguntas fechadas:**

1- O que é mais preocupante, atualmente, o aparecimento de:

- 1) novos casos de brucelose
- 2) a manutenção de casos de brucelose em explorações

2- Da seguinte lista, selecione e ordene, pelo grau de frequência, os 3 fatores de risco que considera mais importantes, na sua opinião, quanto à incidência e também quanto à prevalência da doença nas explorações.

Incidência:

- a) Transumância, mistura de animais
- b) Introdução de animais
- c) Animais silvestres
- d) Partilha de caminhos e de pastos
- e) Vizinhaça com estatuto sanitário inferior a B3 ou sem estatuto conhecido
- f) Troca de animais (reprodutores)
- g) Troca/falha de identificação individual animal
- h) Consumo de água potencialmente contaminada
- i) Controlo da circulação e movimento animal

Prevalência:

- a) Mistura de animais infetados e não infetados
- b) Presença de cães pastores (portadores)
- c) Contaminação do ambiente a partir de material biológico dos partos/abortos
- d) Estrumes contaminados usados como biofertilizantes
- e) Densidade animal
- f) Consumo de material biológico do parto, pelos animais (p.e os cães)
- g) Falha no isolamento de fêmeas gestantes
- h) Intervalo excessivo entre teste e abate de animais
- i) Atitude do produtor/comerciante

3- Da seguinte lista, selecione e ordene, pelo grau de frequência, as 5 falhas

de protecção epidemiológicas, que considera, mais frequentes , quanto à

incidência, e também, 5 falhas, quanto à prevalência da doença, nas explorações.

- a) Controlo de cães pastores portadores
- b) Controlo do contato com animais silvestres
- c) Controlo do abastecimento de água
- d) Controlo dos transportes que entram e saem da exploração
- e) Controlo das vedações entre explorações
- f) Controlo de pessoas visitantes de uma exploração
- g) na vacinação
- h) no abate
- i) na lavagem e desinfecção de locais contaminados
- j) na desratização
- k) higienização dos comedouros e bebedouros
- l) local do parto
- m) assistência humana ao parto
- n) ausência de pedilúvios e rodilúvios
- o) incineração de material biológico contaminado
- p) controlo dos cursos de água
- q) repovoamento de uma exploração, após abate
- r) diagnóstico e sintomatologia clínica difícil

4- Ordene de maior para menor importância, no seu entender, as seguintes actividades de risco humana que poderão contribuir para o insucesso da erradicação da brucelose numa exploração (numa perspectiva de zoonose).

- a) Assistência ao parto
- b) Ordenha manual
- c) Auto-consumo de leite
- d) Auto-consumo de queijo

- e) Venda de leite
- f) Venda de queijo

5- Numa escala de 1 a 6 que classificação atribui à importância dos Inquéritos

Epidemiológicos no apuramento das causas incidência e/ou prevalência

Brucelose.

a) Incidência:

b) Prevalência:

6- Numa escala de 1 a 6 atribua uma classificação à responsabilidade dos produtores na incidência e/ou prevalência da brucelose

a) Incidência:

b) Prevalência:

7- Numa escala de 1 a 6 atribua uma classificação à responsabilidade das OPP na incidência e/ou prevalência da brucelose

a) Incidência:

b) Prevalência:

8- Numa escala de 1 a 6 atribua uma classificação à responsabilidade dos apoios governamentais e financeiros na incidência e/ou prevalência da brucelose

a) Incidência:

b) Prevalência:

## **Anexo II - Grelha de recolha de Informação dos SI**

(Página seguinte)