



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Secretaria de Defesa Agropecuária

Estudo epidemiológico para avaliação de transmissão viral
na zona livre de febre aftosa com vacinação

2014/2015

Relatório final



Departamento de Saúde Animal
Brasília, fevereiro de 2016



Estudo epidemiológico para avaliação de transmissão viral na zona livre de febre aftosa com vacinação - 2014/2015

1. Introdução

Entre os componentes do sistema de vigilância para febre aftosa (FA) em execução na zona livre com vacinação, destacam-se os estudos epidemiológicos para avaliação de transmissão viral. Estes estudos são realizados de forma periódica, com objetivo de atender às recomendações da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), com especial atenção ao Artigo 8.8.3 do Código Sanitário para os Animais Terrestres, 2014 (Código Terrestre-2014), bem como demandas de países importadores. Os resultados obtidos nestes estudos devem ser avaliados de forma complementar às demais atividades do sistema de vigilância implantado na região.

O presente relatório refere-se ao estudo conduzido entre os anos de 2014 e 2015. O trabalho foi delineado e coordenado pelo Departamento de Saúde Animal (DSA), vinculado à Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), e executado pelos serviços veterinários dos estados envolvidos. O delineamento foi realizado no primeiro semestre de 2014, incluindo a elaboração de manuais e a realização de reuniões técnicas de validação e padronização. Os trabalhos de campo foram iniciados em maio de 2014, com as atividades de vigilância e de investigação de seguimento finalizadas em outubro de 2015. Na sequência são apresentadas informações sobre o trabalho realizado e os resultados obtidos.

2. Metodologia

A metodologia utilizada seguiu recomendações da OIE, apresentadas no Artigos 8.5.42 a 8.5.49 do Código Terrestre-2014, com especial atenção ao Item 2 do Artigo 8.5.49, referente ao seguimento dos resultados soropositivos em áreas com vacinação. Para aumentar a efetividade e sensibilidade do estudo, a exemplo dos últimos trabalhos realizados no país, foi utilizada metodologia baseada em risco, considerando fatores de risco fundamentados na movimentação de bovinos e bubalinos e na composição etária dos rebanhos susceptíveis. Em síntese, considerando a extensão da região envolvida, inicialmente foram definidas subpopulações amostrais, representadas por circuitos de comercialização de bovinos e bubalinos entre propriedades rurais. Em seguida, para cada subpopulação amostral identificada, foram realizados estudos independentes para avaliação de transmissão do vírus da FA. Maiores detalhes são apresentados nos itens seguintes.

2.1. Região envolvida e definição de subpopulações amostrais

A condição zoossanitária para FA no país, ao final de 2013, pode ser avaliada por meio da Figura 1. A área incluída no estudo envolveu unidades da Federação com reconhecimento internacional de zona livre de FA com vacinação, representada, ao final do referido ano, por 15 estados, mais parte dos Estados do Amazonas e do Pará. Representou uma área com cerca de 5,5 milhões de km², contendo, ao início das atividades de delineamento do estudo, um total aproximado de 180 milhões de bovinos distribuídos em 2,2 milhão de propriedades rurais. Entre os estados participantes, a média estadual de bovinos por propriedade variou de 30 (Sergipe) a 346 (Mato Grosso do Sul) animais, e o percentual geral de bovinos jovens (< 12 meses), por estado, variou de 15% (Bahia) a 25% (São Paulo). Quanto às demais espécies de produção pecuária, susceptíveis à FA, destacava-se a existência de, aproximadamente, 33 milhões de suínos, distribuídos em granjas comerciais e de subsistência, 27 milhões de pequenos ruminantes e 1 milhão de bubalinos.

Tendo em vista que a região representa um espaço geográfico complexo e de grande extensão geográfica, na hipótese de haver transmissão viral, não se espera uma distribuição homogênea de animais infectados, de forma que considerar toda a região como uma única população, caracterizaria um estudo de baixa sensibilidade e de baixa representatividade populacional. Por outro lado, considerar cada um dos 15 estados envolvidos como populações independentes para avaliação de transmissão viral, seria desconsiderar as características epidemiológicas da doença, podendo levar a esforço amostral e custos desnecessários. Para resolver esta questão, o trânsito de bovinos entre propriedades rurais, registrado nos anos de 2012 e 2013, foi utilizado para identificação de circuitos de comercialização bovina e constituição de subpopulações amostrais. Para isto, a base de dados de movimentação bovina foi organizada em municípios e microrregiões geográficas¹ e utilizada a metodologia proposta por Grisi-Filho et al. (2013)² para detecção de circuitos pecuários.

¹ A menor unidade político-geográfica do País é representada pelos municípios. Segundo o IBGE, os municípios são agrupados em microrregiões geográficas considerando especificidades relacionadas à estrutura da produção agropecuária, industrial, extrativa mineral e pesqueira. Essas microrregiões, por sua vez, constituem as mesorregiões geográficas, que representam espaços geográficos contínuos definidos pelo processo social, como elemento determinante, pelo quadro natural, como elemento condicionante, e pela rede de comunicação e de lugares, como elemento de articulação espacial.

² Grisi-Filho, J.H.H., Amaku, M., Ferreira, F., Dias, R. A., Ferreira Neto, J.S.F., Negreiros, R.L. and Ossada, R., 2013: Detecting livestock production zones. *Prev. Vet. Med.* 110, 304–311. doi:10.1016/j.prevetmed.2012.12.013



Referida metodologia permite, através da análise do trânsito animal entre propriedades rurais e utilizando teorias da área de redes complexas, descobrir quais são os grupos de localidades nos quais um animal tem maior probabilidade de permanecer do seu nascimento até o envio ao abate, envolvendo o ciclo produtivo entre propriedades rurais. Desta maneira, o resultado é a divisão da área em conjuntos de microrregiões nas quais um animal tem maior probabilidade de permanecer ao longo de sua vida até o envio ao abate, constituindo, portanto, um circuito de comercialização de bovinos entre propriedades rurais. As divisões encontradas foram unidas seguindo os critérios de intensidade de trânsito e proximidade geográfica, e validadas durante reuniões técnicas com representantes do serviço veterinário de cada estado envolvido.

O banco de dados utilizado, referentes aos anos de 2012 e 2013, contém a relação de 6,5 milhões de Guias de Trânsito Animal, emitidas pelo serviço veterinário oficial para autorização da movimentação de, aproximadamente, 149,5 milhões de bovinos e bubalinos entre propriedades rurais (finalidades de cria, recria, engorda ou reprodução).

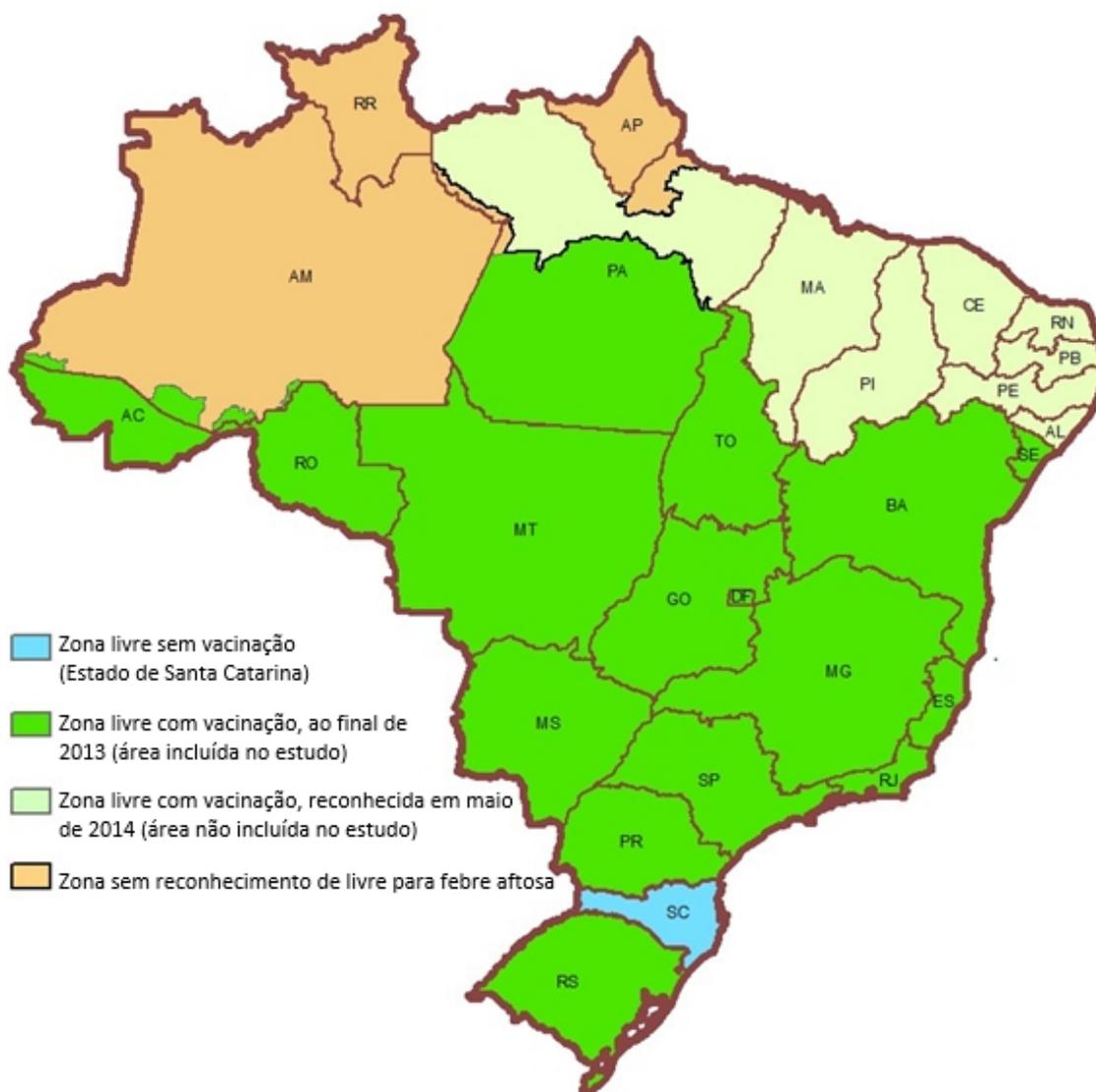


Figura 01. Condição zoossanitária para febre aftosa ao final de 2013, com destaque para a área envolvida no estudo



2.2. Avaliação de transmissão viral

Para investigação de transmissão do vírus da FA, foi adotada estratégia de vigilância baseada em risco e execução de estudo de detecção em duas etapas, com implantação de atividades longitudinais de avaliação clínica e de colheita de amostras de soro sanguíneo, visando a identificação de anticorpos contra proteínas não-estruturais (PNE) do vírus da FA. A investigação foi realizada de forma independente para cada subpopulação amostral, considerando as seguintes hipóteses epidemiológicas: i) caso exista transmissão viral em pelo menos 1% das propriedades rurais com bovinos ou bubalinos jovens, localizadas em municípios de maior intensidade de movimentação animal, espera-se, com 95% de confiança, detectar pelo menos uma propriedade positiva; e ii) se em cada propriedade com transmissão viral existirem, pelo menos, 10% de bovinos ou bubalinos jovens infectados, a probabilidade de encontrar pelo menos um animal jovem positivo em cada uma delas é de 95%.

O uso de fatores de risco tem como objetivo aumentar a sensibilidade do sistema de vigilância, e, para isso, a estratégia do estudo envolveu a investigação de bovinos jovens (6 a 12 meses de idade) localizados em propriedades rurais com maior participação destes animais, distribuídas em municípios com maior intensidade de movimentação de bovinos e bubalinos.

Inicialmente, com base no banco de dados de trânsito de bovinos e bubalinos, foram identificados, em cada subpopulação amostral, os municípios de maior representatividade na movimentação animal, de acordo com os seguintes indicadores, calculados por município:

- Número de diferentes origens de ingresso no município;
- Percentual de ingresso no município em relação ao total de ingressos da subpopulação;
- Percentual do movimento interno do município; e
- Percentual de bovinos movimentados no município em relação ao total de bovinos da subpopulação.

Cada município foi classificado, por subpopulação amostral e de forma independente para os indicadores utilizados, na escala de 0 a 3 segundo o sistema de classificação por quantis, utilizando quatro classes (a menor recebendo escore 0, as intermediárias escores 1 e 2, e a maior, escore 3). Foram selecionados os municípios que obtiveram valores ≥ 3 para o somatório dos indicadores utilizados.

Na sequência, nos municípios selecionados, foram identificados os rebanhos com maior concentração de bovinos jovens, utilizando-se os seguintes critérios de seleção: razão entre bovinos ou bubalinos até 12 meses e fêmeas acima de 36 meses, $\geq 70\%$; ou participação de bovinos ou bubalinos até 24 meses em relação ao total no rebanho, $\geq 25\%$. Na realidade nacional, estes indicadores apontam para propriedades rurais com maior ingresso e comercialização de bovinos jovens, implicando, portanto, em maior risco de introdução do agente viral.

O total de rebanhos (entendidos como unidades primárias de amostragem - UPAs) para investigação em cada subpopulação foi definido utilizando-se o aplicativo *EpiTools epidemiological calculators*, disponibilizado pelo *Animal Health Services – AusVet* (<http://epitools.ausvet.com.au/>). Conforme a hipótese epidemiológica apresentada, os parâmetros para cálculo do número de UPAs, em cada subpopulação amostral, considerou: prevalência mínima esperada de rebanhos infectados de 1% e sensibilidade e nível de confiança de 95%. A especificidade utilizada foi de 100%, considerando que cada UPA com pelo menos um animal com sinais clínicos compatíveis com doença vesicular ou resultado soropositivo foi submetida a investigações complementares de forma a descartar ou confirmar a presença de infecção. Segundo os parâmetros utilizados, para cada subpopulação amostral foi definido o total de 330 UPAs. A alocação das UPAs ocorreu de forma proporcional ao total existente de bovinos e bubalinos no município em relação ao total da subpopulação envolvida, garantindo-se pelo menos uma UPA em cada município de alta movimentação.

Nos municípios escolhidos, as propriedades rurais foram selecionadas, de forma aleatória, a partir da relação de propriedades definidas com base nos critérios apresentados anteriormente. A partir da lista de propriedades selecionadas, os serviços veterinários oficiais realizaram as visitas de campo para constituir as UPAs e dar início às atividades de vigilância dirigidas à detecção de transmissão viral.

Para definição do número de animais para amostragem e investigação em cada UPA, também foi utilizado o aplicativo *EpiTools epidemiological calculators*. Trabalhou-se com nível de confiança de 95%, sensibilidade do sistema de diagnóstico de 90%, especificidade de 100%, prevalência mínima esperada, intra-rebanho, de 10% em bovinos jovens, e distribuição hipergeométrica. O quadro abaixo sintetiza o número de bovinos para amostragem em cada UPA, com base no total existente de bovinos entre 6 e 12 meses de idade. Em cada UPA, os animais para amostragem foram selecionados de forma aleatória, receberam identificação individual de longa duração e permaneceram sem vacinação contra a FA até o final da investigação.



Previsão do total de animais para amostragem em cada UPA, segundo o total existente de bovinos entre 6 e 12 meses de idade

Total de bovinos existentes entre 6 e 12 meses de idade	Nº de bovinos para incluir na amostra
Até 20	Todos
21 a 34	21
35 a 59	25
60 a 72	26
73 a 90	27
91 a 140	28
141 a 200	29
201 a 350	30
351 a 1000	31
> 1000	32

As propriedades selecionadas passaram a ser monitoradas pelo serviço veterinário oficial, com previsão de inspeções a cada 15 dias. Todas as atividades foram registradas em formulários específicos, contemplando informações sobre a localização geográfica da propriedade rural, rebanhos susceptíveis existentes e resultados dos exames clínicos realizados, entre outros dados. Todas as informações foram inseridas em sistema informatizado disponibilizado pelo MAPA.

As amostras de soro sanguíneo foram enviadas para processamento pela rede de laboratórios do MAPA, e estão associadas às seguintes informações para cada animal amostrado: identificação; idade, em meses; sexo; número de vacinações aplicadas no animal durante sua permanência na propriedade; origem do animal, se nascido ou não na propriedade; e resultado das inspeções clínicas de boca e patas. Todas as amostras foram submetidas a teste de triagem ELISA 3ABC, empregando-se o Kit PrioCHECK®. Como teste confirmatório, foi utilizada a prova Western Blot de Imunoeletrotransferência – EITB, fornecida pelo Centro Pan Americano de Febre Aftosa (PANAFTOSA).

Nas UPAs onde todos testes laboratoriais foram negativos e não foram encontrados sinais clínicos compatíveis com doença vesicular, as propriedades rurais foram liberadas após inspeção final pelo serviço veterinário oficial (cada propriedade teve a expectativa de, pelo menos, três inspeções pelo serviço veterinário oficial: uma inspeção inicial, uma inspeção para colheita de amostras e uma inspeção final para liberação da propriedade). Em todas as inspeções foram realizados exames clínicos de boca e patas nos animais amostrados e, em alguns casos, em outros animais susceptíveis existentes nas propriedades rurais.

As UPAs com pelo menos um resultado soropositivo ou indeterminado foram classificadas como possivelmente infectadas, dando origem à investigação epidemiológica complementar. As propriedades integrantes dessas UPAs permaneceram no estudo para realização de colheita pareada e novos exames clínicos. A colheita pareada constitui uma das estratégias previstas no Código Terrestre-2014 para seguimento dos resultados soropositivos, representando a colheita de amostras de soro sanguíneo nos mesmos animais amostrados na colheita imediatamente anterior. Para isso, como mencionado, os animais receberam identificação individual de longa duração e permaneceram sem vacinação contra a FA durante todo o estudo.

Com base nos resultados da colheita pareada e dos exames clínicos complementares, as propriedades pertencentes a UPAs sem permanência de animais soropositivos ou indeterminados e sem evidências clínicas de doença vesicular foram liberadas após inspeção final pelo serviço veterinário oficial. Nas UPAs com permanência de pelo menos um animal soropositivo ou indeterminado após a segunda colheita, as atividades de investigação complementar foram mantidas, incluindo novos exames clínicos; avaliação epidemiológica; e colheita de amostras de líquido esofágico-faríngeo (LEF) para pesquisa viral. Em todos os bovinos que permaneceram com resultados indeterminados ou soropositivos ao final do estudo foi prevista a realização de três colheitas de LEF, em intervalo de 15 dias, para pesquisa viral por meio de teste PCR (*Polymerase Chain Reaction*).



3. Resultados

3.1. Subpopulações amostrais e identificação dos municípios de alta movimentação bovina

A análise do trânsito bovino e bubalino entre propriedades rurais, referente aos anos de 2012 e 2013, permitiu a identificação de cinco circuitos de comercialização bovina entre propriedades rurais, representando cinco subpopulações amostrais (Figura 2), de acordo com a seguinte descrição:

- Subpopulação 1: constituída pelos Estados do Acre e Rondônia, e parte dos Estados do Amazonas, Mato Grosso e Pará, apresentando nível de independência de 97%;
- Subpopulação 2: representada pelo Distrito Federal; Estados de Goiás e Tocantins e parte dos Estados da Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará e São Paulo. Nível de independência de 95%.
- Subpopulação 3: formada pelos Estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro e Sergipe, mais parte dos Estados da Bahia, Minas Gerais e São Paulo, com nível de independência de 90%.
- Subpopulação 4: Estado do Paraná e parte de Mato Grosso do Sul e São Paulo. Nível de independência de 93%.
- Subpopulação 5: constituída pelo Estado do Rio Grande do Sul, com nível de independência de 99%.

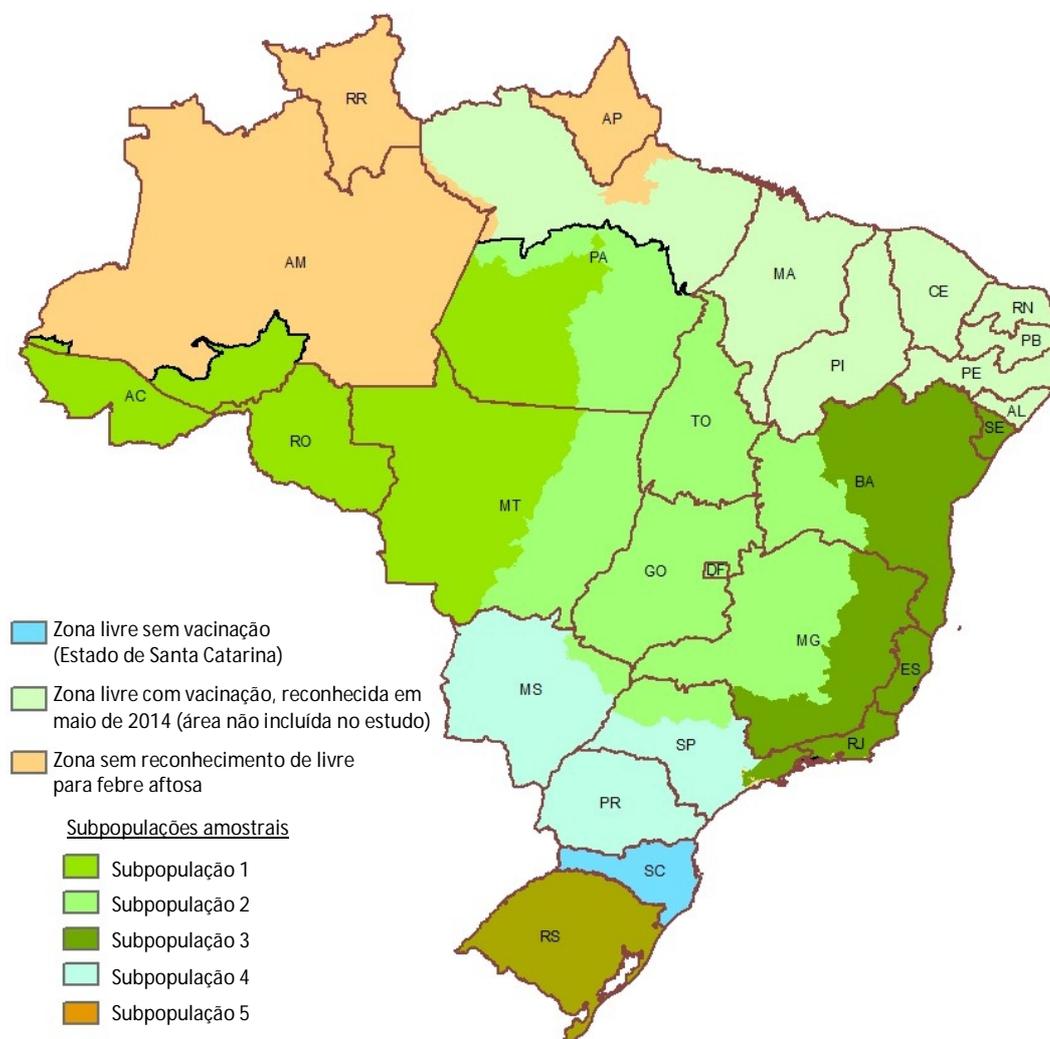


Figura 02. Representação geográfica das subpopulações amostrais

Quanto aos municípios considerados como de alta movimentação, a análise identificou 941 municípios, representando 25% do total existente na região estudada. A distribuição espacial destes municípios está destacada na Figura 3, enquanto na Tabela 01 são apresentadas informações gerais sobre rebanho bovino existente e total de municípios e propriedades selecionadas para constituição das UPAs em cada subpopulação amostral considerada.

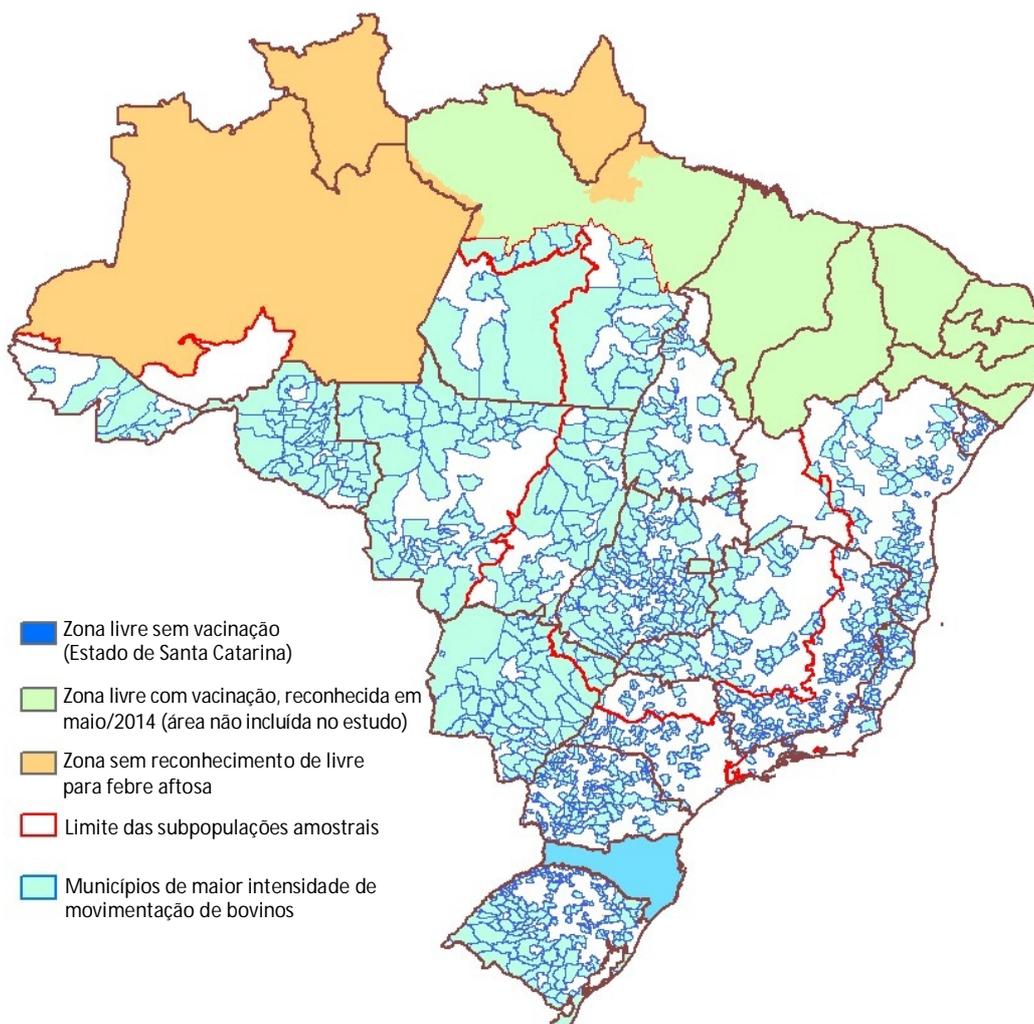


Figura 03. Destaque dos municípios de alta movimentação de bovinos e bubalinos, escolhidos para seleção das propriedades rurais

Tabela 01. Informações sobre rebanho bovino existente e total de municípios e propriedades selecionadas, por subpopulação amostral

Subpopulação amostral	Municípios existentes	Propriedades existentes	Bovinos e bubalinos existentes	Seleção	
				Municípios	Propriedades
1	170	215.750	34.674.365	101	330
2	1.039	649.407	73.025.913	235	385*
3	1.228	625.916	24.945.743	250	330
4	844	353.400	34.414.305	220	330
5	496	449.640	13.284.204	135	330
Total	3.777	2.294.113	180.344.530	941	1.705

* Houve ampliação do número de UPAs nesta subpopulação, com inclusão de mais propriedades no Distrito Federal, com objetivo de atender solicitação de mercado importador

3.2. Características e informações gerais sobre a amostragem realizada

Na Tabela 02 são apresentadas informações sobre a amostra estimada e a realizada, por subpopulação amostral e UF. De forma geral, a amostragem foi bem atendida, destacando-se que no Estado de Goiás houve acréscimo de dois municípios de alta movimentação e no Distrito Federal, onde estava previsto apenas uma UPA, o número foi acrescido em mais 55 com objetivo de atender demanda de mercado importador. Quanto ao número de amostras, deve-se esclarecer que a estimativa foi baseada no número máximo de amostras por UPA, valores que, durante a execução das atividades de campo, foram adequados ao quadro de amostragem apresentado no item 2.2 deste documento, com base no total de bovinos e bubalinos de 6 a 12 meses de idade existentes em cada UPA no momento da inspeção inicial.



A distribuição espacial das propriedades selecionadas para constituição das UPAs pode ser avaliada na Figura 04 e a distribuição do total de UPAs por município, na Figura 05. Do total de propriedades selecionadas, 89,3% (1.522/1.705) permaneceram no estudo e 10,7% foram substituídas (183/1.705) por não apresentarem, durante a inspeção inicial, bovinos na faixa etária de 6 a 12 meses. Os maiores percentuais de substituição foram registrados no Distrito Federal e no Estado de Sergipe.

Com objetivo de complementar o número mínimo de bovinos jovens por UPA, foram incluídas mais 132 propriedades rurais no estudo, especialmente no Rio Grande do Sul (62), Distrito Federal (38) e Paraná (16). Dessa forma, as 1.705 UPAs ficaram constituídas por 1.837 propriedades, sendo que 1.612 UPAs (94,6% do total) com uma propriedade; 62 (3,6%) com duas propriedades; e 31 (1,8%) com três ou mais propriedades. Das propriedades envolvidas, 81,6% dedicavam-se à produção de carne, 11,3% à produção de leite; e 7,1%, à produção mista (de carne e leite).

Do total de UPAs, em 99,4% foi atendida a condição de existência de, no mínimo, 20 bovinos menores de 12 meses de idade. Apenas na subpopulação amostral 3, em 10 UPAs o número mínimo de animais não foi atendido (nove UPAs na Bahia e uma UPA em Sergipe).

Tabela 02. Informações sobre a amostragem estimada e a realizada, segundo UF e subpopulação amostral

Subpopulação	UF	Estimado			Realizado				Realizado - Estimado			
		Municípios	UPAs	Amostras	Municípios	UPAs	Amostras		Municípios	UPAs	Amostras	
1	AC	9	10	320	9	10	278	87%	0	0	-42	-13%
	MT	44	151	4.832	44	151	4.665	97%	0	0	-167	-3%
	PA	4	12	384	4	12	363	95%	0	0	-21	-5%
	RO	44	157	5.024	44	157	4.638	92%	0	0	-386	-8%
	Total	101	330	10.560	101	330	9.944	94%	0	0	-616	-6%
2	BA	4	4	128	4	4	111	87%	0	0	-17	-13%
	DF	1	1	32	1	56	1.194	3731%	0	55	1.162	3631%
	GO	81	121	3.872	83	121	3.489	90%	2	0	-383	-10%
	MG	50	70	2.240	50	70	1.897	85%	0	0	-343	-15%
	MS	7	11	352	7	11	347	99%	0	0	-5	-1%
	MT	27	38	1.216	27	38	1.156	95%	0	0	-60	-5%
	PA	21	37	1.184	21	37	1.135	96%	0	0	-49	-4%
	SP	15	15	480	15	15	424	88%	0	0	-56	-12%
	TO	29	33	1.056	29	33	986	93%	0	0	-70	-7%
	Total	235	330	10.560	237	385	10.739	102%	2	55	179	2%
3	BA	81	110	3.520	81	110	2.705	77%	0	0	-815	-23%
	ES	26	44	1.408	26	44	1.151	82%	0	0	-257	-18%
	MG	119	149	4.768	119	149	3.845	81%	0	0	-923	-19%
	RJ	5	5	160	5	5	132	83%	0	0	-28	-18%
	SE	15	18	576	15	18	400	69%	0	0	-176	-31%
	SP	4	4	128	4	4	109	85%	0	0	-19	-15%
Total	250	330	10.560	250	330	8.342	79%	0	0	-2.218	-21%	
4	MS	53	139	4.448	53	139	4.380	98%	0	0	-68	-2%
	PR	118	135	4.320	118	135	3.656	85%	0	0	-664	-15%
	SP	49	56	1.792	49	56	1.610	90%	0	0	-182	-10%
Total	220	330	10.560	220	330	9.646	91%	0	0	-914	-9%	
5	RS	135	330	10.560	135	330	8.853	84%	0	0	-1.707	-16%
Total	941	1.650	52.800	943	1.705	47.524	90%	2	55	-5.276	-10%	

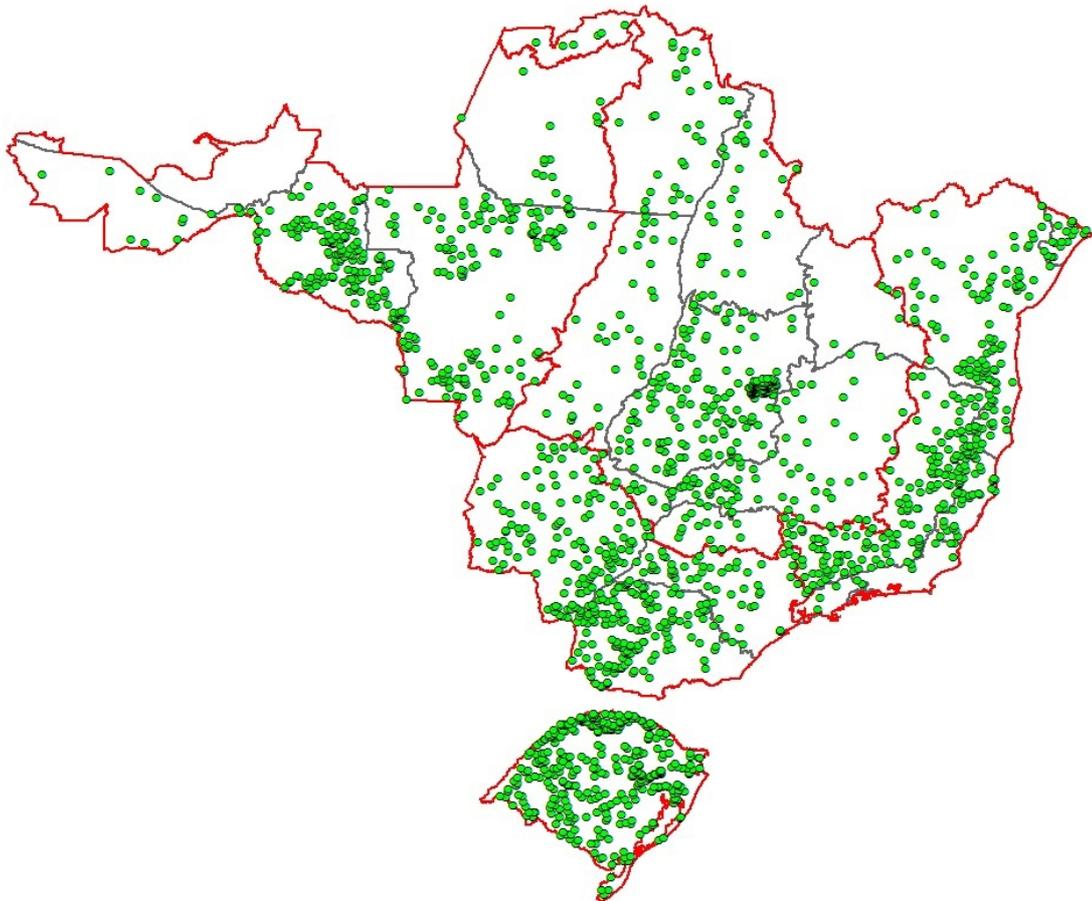


Figura 04. Distribuição geográfica das propriedades rurais que participaram do estudo

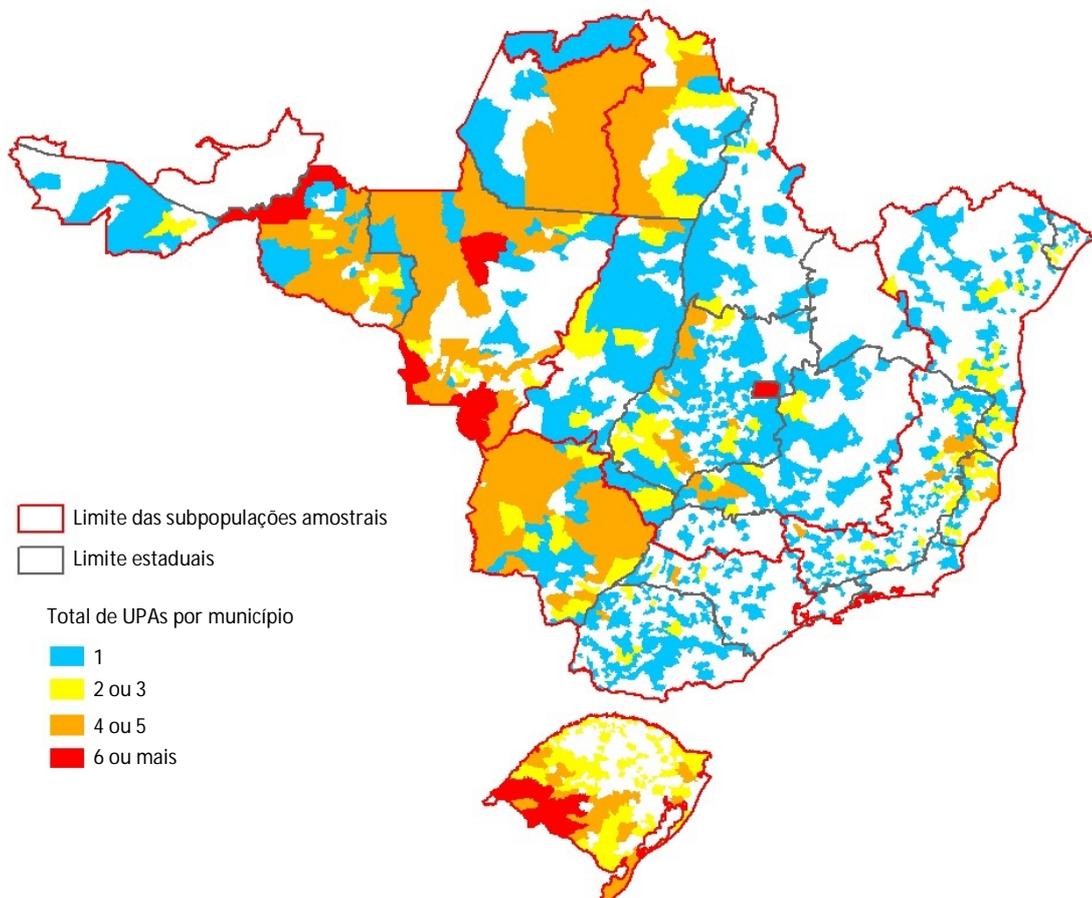


Figura 05. Distribuição dos municípios envolvidos no estudo, classificados segundo o total de UPAs por município



Informações sobre o total de bovinos amostrados por subpopulação estão disponíveis nas Tabelas 03 e 04. Dos animais amostrados, 99,1% estavam incluídos na faixa etária de 6 a 12 meses. Destaca-se na subpopulação 2 um maior número de bovinos acima de 12 meses de idade (3%), devido à perda de brinco e consequente necessidade de realizar nova colheita de amostras, em especial no Estado de Goiás, mantendo-se os mesmos animais e atualizando a idade para o momento da colheita. Entretanto, esses animais iniciaram o estudo dentro da faixa etária programada, mantendo-se com o mesmo status de vacinação até o final do estudo. A maior parte dos animais amostrados foi nascida nas propriedades selecionadas, destacando-se que 97% apresentavam histórico de uma ou duas vacinações. A participação de bovinos não vacinados ou com apenas uma vacinação (Figura 6) foi de 40,5% (19.302/47.609), registrando-se na subpopulação 3, o maior percentual de bovinos não vacinados, 13,5% (em especial nos Estados da Bahia e de Minas Gerais).

Tabela 03. Total de bovinos amostrados por subpopulação amostral, segundo grupo etário e origem dos animais

Subpopulação	Bovinos amostrados	Grupo etário				Origem (nascidos ou não na propriedade)			
		6 a 12 meses		> 12 meses		Sim		Não	
1	9.944	9.926	99,82%	18	0,18%	8.499	85,5%	1.445	14,5%
2	10.803	10.479	97,00%	324	3,00%	8.180	75,7%	2.623	24,3%
3	8.342	8.341	99,99%	1	0,01%	7.046	84,5%	1.296	15,5%
4	9.667	9.666	99,99%	1	0,01%	7.878	81,5%	1.789	18,5%
5	8.853	8.771	99,07%	82	0,93%	7.069	79,8%	1.784	20,2%
Total	47.609	47.183	99,11%	426	0,89%	38.672	81,2%	8.937	18,8%

Tabela 04. Histórico de vacinação contra a febre aftosa nos bovinos amostrados, nascidos nas propriedades rurais

Subpopulação	Total de vacinações realizadas nos animais nascidos nas propriedades								Bovinos amostrados
	Não vacinados		Uma vacinação		Duas vacinações		Três vacinações		
1	70	0,82%	3.450	40,59%	4.979	58,58%	0	0,00%	8.499
2	160	1,96%	4.411	53,92%	3.600	44,01%	9	0,11%	8.180
3	951	13,50%	3.658	51,92%	2.437	34,59%	0	0,00%	7.046
4	1	0,01%	4.242	53,85%	3.635	46,14%	0	0,00%	7.878
5	0	0,00%	2.359	33,37%	4.710	66,63%	0	0,00%	7.069
Total	1.182	3,06%	18.120	46,86%	19.361	50,06%	9	0,02%	38.672

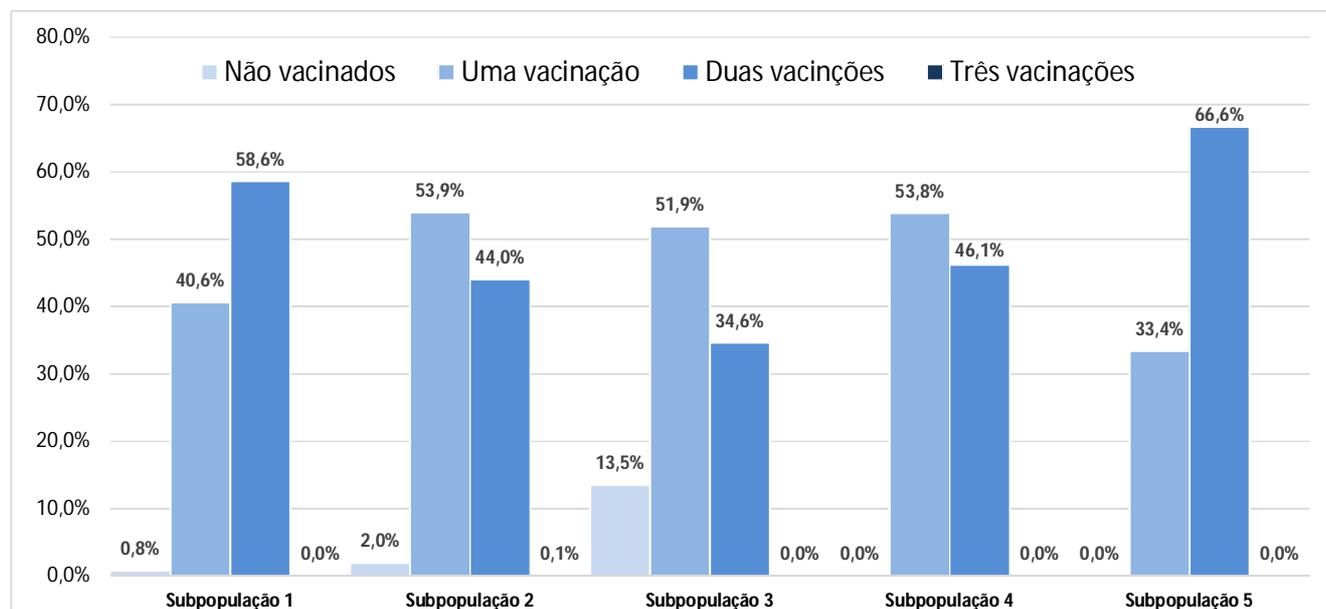


Figura 06. Percentual de bovinos nascidos nas propriedades rurais, segundo histórico de vacinação, por subpopulação amostral

3.3. Informações sobre as atividades realizadas e resultado das inspeções de seguimento

Uma visão geral sobre o período de execução das principais etapas do estudo é apresentada na Figura 7. As atividades de inspeção inicial concentraram-se principalmente nos meses de julho e agosto de 2014, e as atividades de primeira colheita nos meses de agosto e setembro do referido ano.

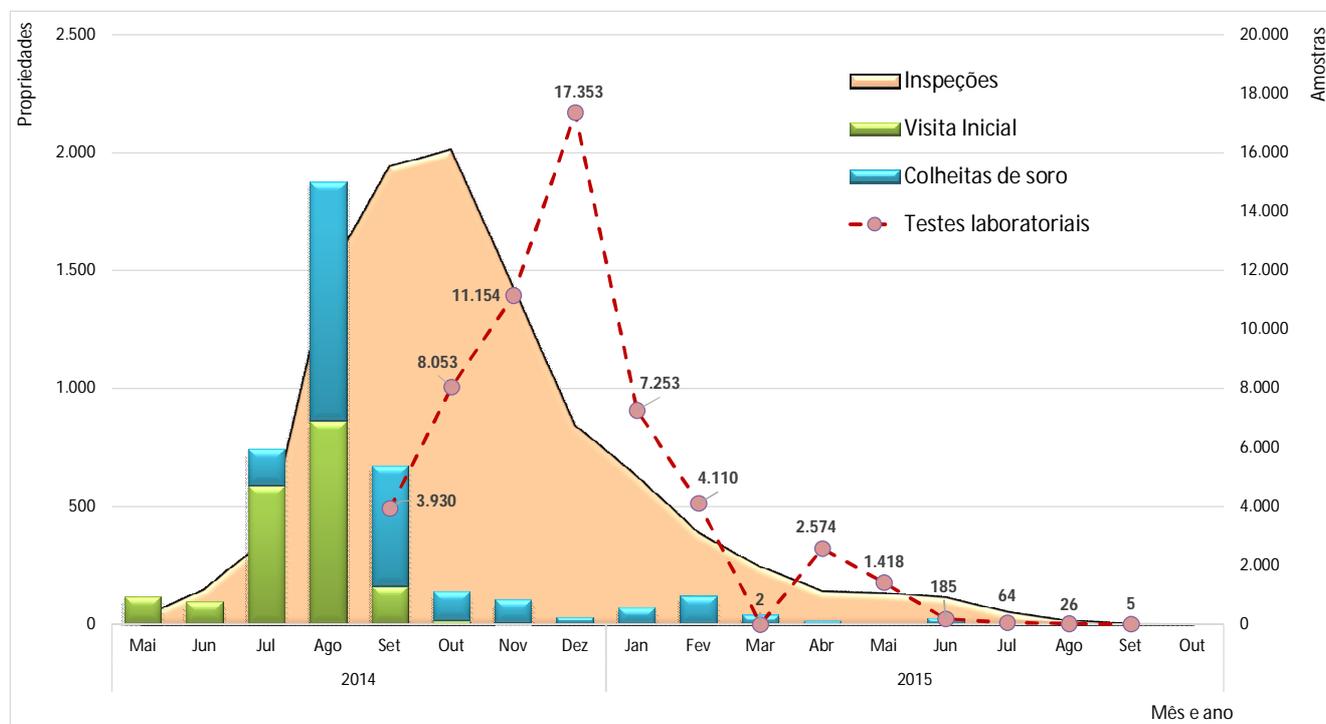


Figura 07. Distribuição mensal do número de propriedades investigadas pelo serviço veterinário oficial e total de amostras processadas, de acordo com as principais etapas de execução do estudo epidemiológico

Após o procedimento inicial para constituição das UPAs e no intervalo entre as atividades de colheita de amostras, as propriedades rurais envolvidas foram mantidas sob inspeção pelo serviço veterinário estadual. No decorrer de todo o estudo, foram realizadas 11.907 inspeções nas propriedades rurais selecionadas (incluindo inspeção inicial, inspeção para colheitas de amostras e inspeções de seguimento), sendo que cada inspeção está registrada em formulário específico, contemplando: resultado da vistoria geral dos rebanhos susceptíveis; exame clínico de boca e patas dos animais amostrados e de um número variável de animais de outras espécies suscetíveis; avaliação clínica individual de qualquer outro animal apresentando sinais de claudicação ou salivação; e registro de nascimentos e mortes de animais susceptíveis à FA ocorridos entre os intervalos das inspeções. Na Tabela 05 são apresentadas informações gerais sobre o número de inspeções realizadas por subpopulação amostral, destacando os valores médios referentes às inspeções por propriedade e ao intervalo entre inspeções, enquanto nas Figura 8 e 9 pode ser avaliada a distribuição de frequências do número de inspeções por propriedade, respectivamente para todo o estudo e segundo subpopulação envolvida. Em termos gerais, devido principalmente à dificuldade de acesso em algumas localidades e visando a otimização das atividades de inspeção, 0,7% das propriedades (13/1.837) apresentaram apenas uma inspeção (visita inicial e colheita no mesmo dia e liberação sem inspeção de encerramento) e 7,0% (129/1.837), duas inspeções (sem inspeção de encerramento). Na maioria das propriedades (92,3%) foram realizadas, no mínimo, três inspeções pelo serviço veterinário oficial. Em média, para todas as subpopulações, o intervalo entre inspeções foi superior ao programado (15 dias). A distribuição de propriedades, segundo intervalo médio entre inspeções, pode ser avaliada na Figura 10.



Tabela 05. Informações sobre total de inspeções realizadas pelo serviço veterinário oficial, por subpopulação amostral

Subpopulação	Propriedades inspecionadas	Inspeções realizadas			Intervalo entre inspeções (dias)	
		Total	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
1	337	2.176	6,5	3,1	34,1	23,8
2	426	3.488	8,2	3,8	25,0	12,6
3	334	2.008	6,0	3,2	42,4	30,0
4	348	2.241	6,4	3,0	30,2	20,4
5	392	1.992	5,1	2,4	37,1	19,7
Total	1.837	11.907	6,5	3,3	33,6	22,3

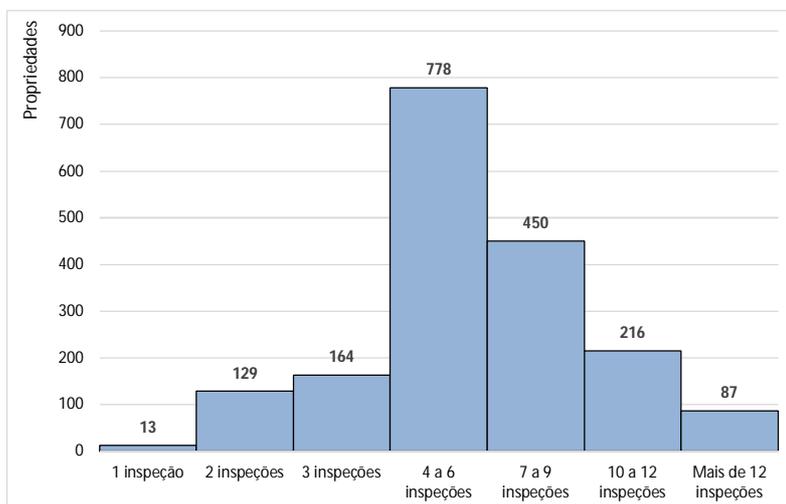


Figura 08. Distribuição do total de propriedades rurais, segundo número de inspeções realizadas

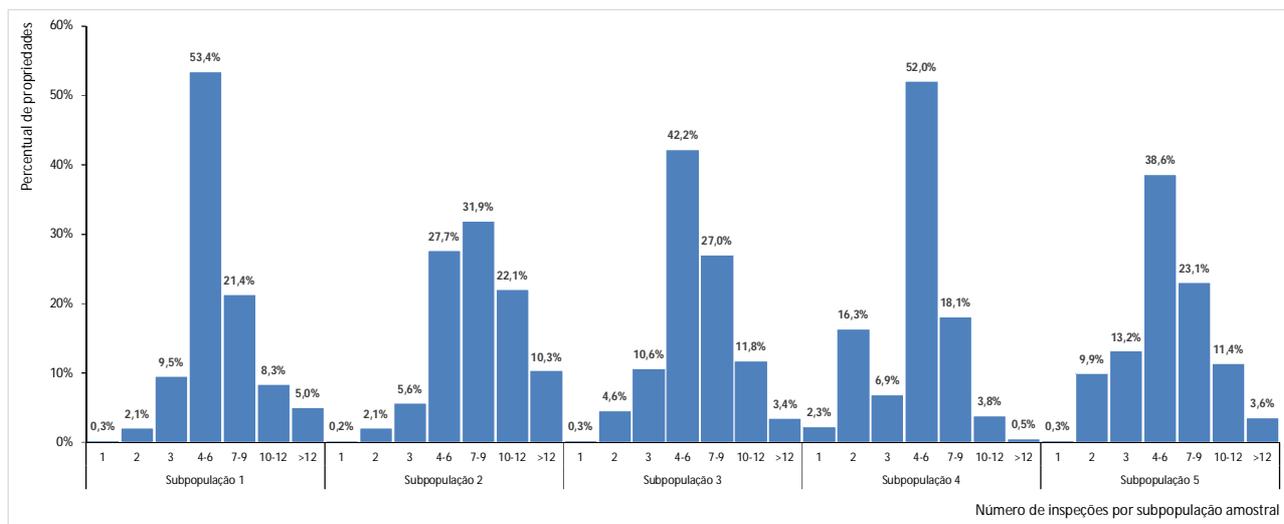


Figura 09. Distribuição do total de propriedades rurais, segundo número de inspeções realizadas por subpopulação amostral

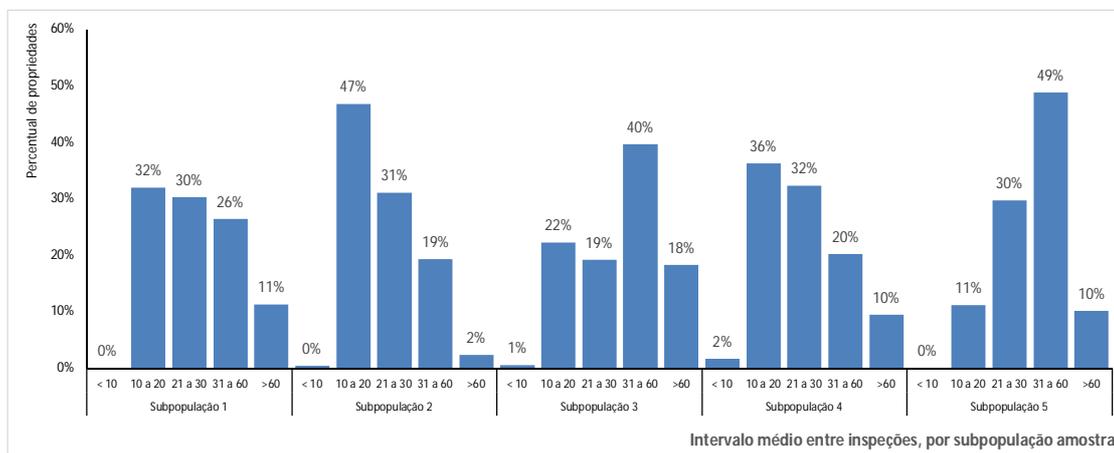


Figura 10. Distribuição do total de propriedades rurais, segundo intervalo médio entre inspeções



Informações referentes a nascimentos, abate para consumo e mortes de animais susceptíveis, registradas durante as atividades de inspeção, podem ser avaliadas na Tabela 06, por subpopulação amostral. As principais causas de morte registradas pelo serviço veterinário oficial, segundo declaração dos responsáveis pelos animais, estão resumidas na Tabela 07, de acordo com a espécie susceptível envolvida.

Tabela 06. Informações sobre o total de nascimentos, abates e mortes de animais susceptíveis à febre aftosa nas propriedades selecionadas para constituição das UPAs, durante o período de realização do estudo

Sub	Registro de nascimentos			Venda para abate ou consumo na propriedade			Registro de mortes (idade em meses)										
	Bov	PR	Sui	Bov	PR	Sui	Bov					PR			Sui		
							<12m	13 a 24m	25 a 36m	> 36m	Total	<6m	>6m	Total	<6m	>6m	Total
1	161.515	1.427	781	941	35	59	858	367	105	399	1.729	27	5	32	13	1	14
2	126.119	787	1.564	511	89	144	2.011	1.007	419	561	3.998	77	76	153	83	9	92
3	14.686	770	19.807	324	3	16	767	206	71	356	1.400	1	0	1	1.656	0	1.656
4	117.599	1.599	3.336	1.651	97	59	1.416	425	290	712	2.843	33	94	127	53	2	55
5	45.097	2.966	4.833	148	175	0	370	199	60	172	801	11	60	71	82	0	82
Total	465.016	7.549	30.321	3.575	399	278	5.422	2.204	945	2.200	10.771	149	235	384	1.887	12	1.899

Sub = subpopulação; Bov = bovinos e bubalinos; PR = pequenos ruminantes (caprinos e ovinos); Sui = suínos

Tabela 07. Identificação das principais causas de morte nas propriedades selecionadas para constituição das UPAs

Principais causas de morte	Espécie						Total	Total
	Bov		PR		Sui			
Não definida ou natural	3.459	32,1%	106	27,6%	30	1,6%	3.595	27,5%
Acidentes na propriedade ou por traumatismos	1.919	17,8%	17	4,4%	866	45,6%	2.802	21,5%
Desnutrição ou outros problemas nutricionais	1.428	13,3%	8	2,1%	830	43,7%	2.266	17,4%
Problemas infecciosos não relacionados a doenças vesiculares	1.000	9,3%	16	4,2%	84	4,4%	1.100	8,4%
Acidente ofídico	921	8,6%	22	5,7%	0	0,0%	943	7,2%
Ataque de animais	762	7,1%	152	39,6%	2	0,1%	916	7,0%
Problemas reprodutivos ou relacionados ao parto	484	4,5%	26	6,8%	77	4,1%	587	4,5%
Intoxicação (plantas e outros produtos químicos)	440	4,1%	5	1,3%	10	0,5%	455	3,5%
Verminose ou infestação parasitária	358	3,3%	32	8,3%	0	0,0%	390	3,0%
Total	10.771		384		1.899		13.054	100,0%

Bov = bovinos e bubalinos; PR = pequenos ruminantes (caprinos e ovinos); Sui = suínos

O resultado das avaliações clínicas realizadas nos animais amostrados e em outros animais susceptíveis à FA durante as inspeções nas UPAs está sintetizado na Tabela 08, segundo subpopulação amostral. Durante essas inspeções, foi identificado um total de 6.999 animais com sinais clínicos caracterizados como traumatismo ou como lesões secundárias ou ulcerativas não compatíveis com doença vesicular.

Tabela 08. Avaliações clínicas realizadas pelo serviço veterinário oficial nos animais amostrados e em outros animais susceptíveis à febre aftosa durante as inspeções de seguimento

Subpopulação	Exames clínicos realizados			Animais com lesões de boca e patas não compatíveis com doença vesicular		
	Bovinos e bubalinos	Pequenos ruminantes	Suínos	Bovinos e bubalinos	Pequenos ruminantes	Suínos
1	52.692	1.771	633	3.382	156	21
2	75.213	4.701	3.796	848	28	4
3	39.155	1.496	321	1.031	11	2
4	57.121	2.934	1.259	807	7	48
5	33.909	2.815	3.164	630	23	1
Total	258.090	13.717	9.173	6.698	225	76



3.4. Atividades de colheita de amostras para avaliação de anticorpos contra PNC

Todo o estudo, considerando colheita inicial e colheitas pareadas, envolveu 58.591 amostras, das quais, 4,2% (2.464 amostras) foram descartadas pela rede de laboratórios do MAPA, devido a problemas relacionados à quantidade (1.535 amostras); qualidade (174 amostras) e identificação (143 amostras). Os testes laboratoriais foram realizados pelos LANAGROS de Pernambuco (62,6%); Pará (19,8%) e Rio Grande do Sul (17,6%). Como previsto, os bovinos que permaneceram com resultados indeterminados ou soropositivos ao final do estudo foram submetidos a colheitas de amostras de LEF que foram processadas no LANAGRO de Minas Gerais.

a) Resultados dos testes laboratoriais na primeira colheita

Os resultados dos testes para avaliação de anticorpos contra PNE, referentes à primeira colheita e por subpopulação amostral, estão sintetizados na Tabela 09. Do total de UPAs constituídas, em 1.400 (82% do total) não foram identificados animais soropositivos ou com resultados indeterminados e nem com sinais clínicos indicativos de doença vesicular, permitindo a liberação das propriedades rurais envolvidas. O total de bovinos soropositivos variou de 0,2% a 0,6%, valores compatíveis com a falta de especificidade do sistema de diagnóstico laboratorial utilizado, cujo valor médio gira em torno de 0,5%. Independente da possibilidade de falsos positivos, a investigação prosseguiu em 305 UPAs, das quais, 156 com pelo menos um bovino indeterminado e 149 com pelo menos um bovino soropositivo. Nessas UPAs foram realizadas novas inspeções, incluindo exames clínicos e colheita pareada.

Tabela 09. Resultados dos testes para avaliação de anticorpos contra PNE, referentes à primeira colheita, por subpopulação amostral

Subpopulação	UPA	Bovinos amostrados	Resultados					
			UPAs		Bovinos			
			Indeterminadas ¹	Positivas ²	Indeterminados ³		Positivos ³	
1	330	9.944	28	48	33	0,3%	62	0,6%
2	385	10.739	40	23	55	0,5%	26	0,2%
3	330	8.342	28	35	42	0,5%	44	0,5%
4	330	9.646	32	29	46	0,5%	32	0,3%
5	330	8.853	28	14	41	0,5%	16	0,2%
Total	1.705	47.524	156	149	217	0,5%	180	0,4%

1. UPA indeterminada = UPA com pelo menos um bovino com resultado indeterminado no sistema laboratorial utilizado

2. UPA positiva = UPA com pelo menos um bovino com resultado positivo no sistema laboratorial utilizado

3. Resultado frente ao sistema ELISA 3ABC PrioCHECK®/EITB

b) Resultados da colheita pareada

Resultados da colheita pareada, acumulados por subpopulação amostral estão apresentados nas Tabelas 10 e 11, respectivamente para as UPAs classificadas como indeterminadas e como positivas após primeira colheita.

Tabela 10. Resultados dos testes para avaliação de anticorpos contra PNE, referentes à primeira colheita e colheita pareada, nas UPAs sem bovinos soropositivos, mas com pelo menos um bovino indeterminado na colheita 1, por subpopulação amostral

Subpopulação	UPAs apenas com resultados indeterminados na colheita 1				Resultados da colheita 2							
	UPA	Bovinos			Realizado				Resultados			
		Amostrados	Ind	Ind/UPA	UPA	Amostras	UPAs		Bovinos			
							Ind	Pos	Ind	Pos		
1	28	863	30	1,1	28	100%	856	99,2%	4	2	4	2
2	40	1.174	48	1,2	40	100%	1.116	95,1%	1	5	4	6
3	28	703	36	1,3	28	100%	669	95,2%	4	3	5	4
4	32	955	38	1,2	32	100%	918	96,1%	3	9	8	10
5	28	754	34	1,2	28	100%	697	92,4%	4	2	6	3
Total	156	4.449	186	1,2	156	100%	4.256	95,7%	16	21	27	25



Tabela 11. Resultados dos testes para avaliação de anticorpos contra PNE, referentes à primeira colheita e colheita pareada, nas UPAs com pelo menos um bovino soropositivo na colheita 1, por subpopulação amostral

Subpopulação	UPAs com resultados positivos na colheita 1							Resultados da colheita 2						
	UPA	Bovinos						Realizado				Resultados		
		Amostrados	Ind	Ind/UPA	Pos	Pos/UPA	UPA	Amostras	Ind	Pos	Ind	Pos		
1	48	1.469	3	0,1	62	1,3	48	100%	1.413	96,2%	4	10	7	11
2	23	709	7	0,3	26	1,1	23	100%	653	92,1%	1	3	3	4
3	35	902	6	0,2	44	1,3	35	100%	825	91,5%	7	3	11	3
4	29	864	8	0,3	32	1,1	29	100%	819	94,8%	3	7	3	9
5	14	394	7	0,5	16	1,1	14	100%	381	96,7%	1	1	1	1
Total	149	4.338	31	0,2	180	1,2	149	100%	4.091	94,3%	16	24	25	28

Nas UPAs classificadas como indeterminadas, a segunda colheita de amostras em bovinos atingiu 95,7% da previsão geral. Dos 186 bovinos indeterminados na colheita 1, apenas 11 animais (5,9% do total) localizados em nove UPAs, não foram incluídos na segunda colheita, devido a morte ou perda de brinco. Dos 175 bovinos indeterminados na primeira colheita e que foram incluídos na colheita pareada, 164 (93,7%) apresentaram resultado negativo, 7 (4,0%) mantiveram resultado indeterminado e 4 (2,3%), localizados em quatro UPAs, tornaram-se soropositivos. Por outro lado, entre os bovinos negativos na primeira colheita, 20 passaram a apresentar resultado indeterminado e 21, resultado positivo.

Quanto às UPAs classificadas como positivas na primeira colheita, de forma geral, foram colhidas 94,3% das amostras previstas de bovinos. Dos 31 animais com resultado indeterminado na primeira colheita, 30 foram incluídos na colheita pareada, sendo que 29 tornaram-se negativos e apenas um manteve resultado indeterminado. Entre os 180 bovinos soropositivos, 170 foram recuperados para a colheita pareada, dos quais 158 tornaram-se negativos, cinco passaram a reagir como indeterminados e sete, localizados em sete UPAs, repetiram o resultado soropositivo. Entre os 4.127 bovinos negativos na primeira colheita, 3.891 foram incluídos na colheita pareada, dos quais 21 foram soropositivos e 19 indeterminados.

Os resultados da colheita pareada e das inspeções clínicas nas UPAs classificadas inicialmente como indeterminadas ou positivas não revelaram qualquer suspeita de transmissão viral, destacando-se ausência em todas as UPAs de aumento significativo de animais reagentes e de ocorrências clínicas compatíveis com doenças vesiculares. Independente da ausência de indícios de circulação viral, os trabalhos de investigação complementar prosseguiram nas UPAs onde persistiram bovinos soropositivos ou com resultado indeterminado. As demais UPAs foram liberadas após inspeção final de monitoramento.

Em síntese, após a colheita pareada, das 335 UPAs envolvidas, 258 tornaram-se negativas, 45 apresentaram pelo menos um bovino soropositivo e 32 pelo menos um bovino com resultado indeterminado. Dos 105 bovinos que apresentaram resultado soropositivo ou indeterminado na colheita pareada, 103 foram submetidos a três colheitas de LEF (uma amostra foi descartada no laboratório); um bovino com resultado indeterminado morreu e outro, também com resultado indeterminado, perdeu a identificação e não foi possível realizar a colheita de LEF. Neste último caso, foi realizada nova colheita pareada de amostras de soro sanguíneo e todas apresentaram resultados negativos para detecção de anticorpos contra PNE. Todas as 308 colheitas de LEF, que tiveram as amostras processadas, foram realizadas em intervalos médios de 15 dias, obtendo resultados negativos para pesquisa viral, por meio de teste PCR. Adicionalmente, dos 53 bovinos soropositivos na segunda colheita, em 43 foi realizada nova colheita de amostras de soro sanguíneo, das quais 40 apresentaram resultados negativos, uma resultado indeterminado e duas, resultado positivo. Dos 52 bovinos com resultados indeterminados na segunda colheita, em 18 foi realizada nova colheita de amostras, sendo 17 negativos e um soropositivo.



3.5. Avaliação da distribuição espacial das UPAs com bovinos soropositivos

A análise da distribuição espacial, visando a identificação de *clusters*, esperados em processos infecciosos envolvendo doenças transmissíveis como a FA, foi realizada utilizando as coordenadas geográficas de cada propriedade envolvida no estudo, utilizando-se sistema de coordenadas planas, Mercator, Brasil, SIRGAS2000. Para as UPAs constituídas por mais de uma propriedade, as análises espaciais consideraram o ponto central calculado a partir das coordenadas geográficas das propriedades de cada UPA. Por meio de matriz de proximidade, foi avaliada a distância entre as UPAs, identificando-se para cada uma a distância entre o vizinho mais próximo, de forma a verificar a viabilidade epidemiológica para constituição de *clusters*. Para análise de *clusters* foi utilizado o software SaTScan™, empregando-se o método de varredura espacial, com nível de significância de 5%, configurando o aplicativo para o modelo de distribuição de Poisson para dados discretos, opção *High*, com análises limitadas a raios de 20km e 30km.

A distribuição espacial das UPAs envolvidas no estudo, com destaque para aquelas com pelo menos um bovino soropositivo após a colheita pareada, pode ser avaliada na Figura 11. A análise de formação de *clusters* foi realizada de forma conjunta para as subpopulações amostrais. No cenário considerado, empregando-se raios de 20km e 30km, não foi constatada a formação de *clusters*, ao nível de significância de 5%. Deve-se destacar que nas subpopulações consideradas, a análise de proximidade entre as UPAs revelou compatibilidade para formação de *clusters*, no caso de haver transmissão do vírus da FA, uma vez que, de forma geral, 76% das UPAs apresentavam vizinho mais próximo em distância inferior a 30 km, incluindo, entre estas, 37 das 45 UPAs com animais soropositivos consideradas na análise espacial. O percentual de UPAs com vizinhos mais próximos a uma distância de até 30 km, foi de 81% na subpopulação 1, 57% na subpopulação 2, 77% na subpopulação 3, 74% na subpopulação 4 e 94% na subpopulação 5.

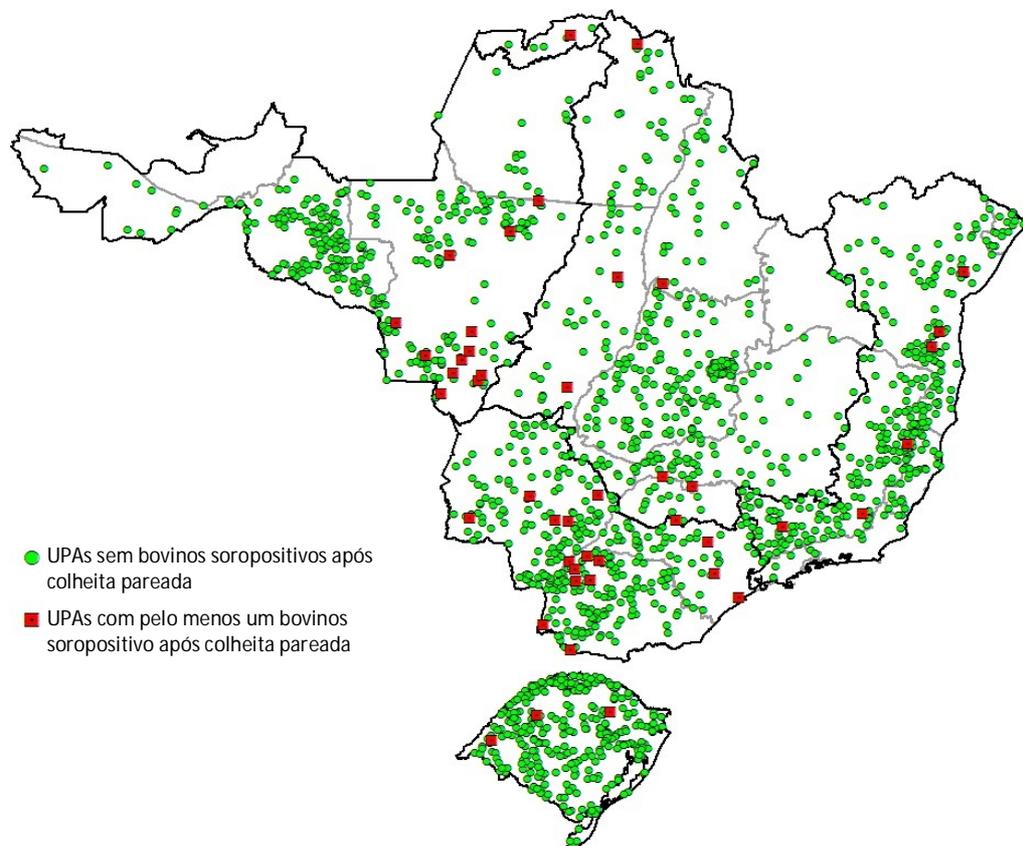


Figura 11. Distribuição espacial das UPAs, segundo a presença de bovinos soropositivos após a colheita pareada



4. Considerações finais

Em termos gerais, o trabalho realizado cumpriu adequadamente o delineamento proposto, registrando-se poucos descartes de amostras, reduzidas inconsistências operacionais e bom nível de recuperação de animais para os trabalhos de colheita pareada e de investigação complementar. O estudo desenvolvido cumpriu com os objetivos propostos e os resultados obtidos contribuem para apoiar a certificação de ausência de transmissão do vírus da febre aftosa na região avaliada, destacando-se os seguintes pontos:

- a sensibilidade global do estudo, variou de 95,4% a 95,7% para as subpopulações 1, 3, 4 e 5, e foi de 97,3% na subpopulação 2, devido ao maior número de UPAs nesta última. A sensibilidade de rebanhos apresentou os seguintes valores médios e respectivos desvios-padrão (dp) por subpopulação: 94,0% (dp 1,2%) na subpopulação 1; 93,6% (dp 3,0%) na subpopulação 2; 92,5% (dp 4,8%) na subpopulação 3; 93,8% (dp 2,4%) na subpopulação 4; e 94,6% (dp 2,1%) na subpopulação 5;
- as atividades de inspeção de seguimento e de colheita de amostras foram dirigidas a bovinos jovens, com maior susceptibilidade à doença, localizados em rebanhos escolhidos entre as propriedades com maior risco de infecção pelo vírus da FA (com base na estrutura etária dos rebanhos), localizados em municípios de maior movimentação de bovinos e bubalinos, aumentando a probabilidade de detecção do agente viral caso estivesse circulando na região avaliada;
- foi realizada expressiva quantidade de inspeções nos rebanhos das propriedades rurais selecionadas, permitindo a vistoria e inspeção clínica de quantidade significativa de animais susceptíveis. Todos os achados clínicos observados pelo serviço veterinário oficial foram registrados em formulários específicos, descartando-se a ocorrência de doenças vesiculares. De forma geral, os intervalos entre inspeções ficaram aquém do programado em todas as subpopulações amostrais (intervalos de 15 dias), fato que deverá ser ajustado para os próximos estudos; e
- em todas as subpopulações avaliadas foi observada reduzida reatividade para anticorpos contra PNE, incompatível com situações onde exista transmissão do vírus da FA. Todas as UPAs com pelo menos um bovino soropositivo foram investigadas, envolvendo repetidas inspeções clínicas dos animais amostrados, colheita pareada de amostras de soro sanguíneo e realização de colheitas de LEF para pesquisa viral, com resultados negativos aos testes laboratoriais utilizados, demonstrando que os resultados soropositivos observados apresentam-se incompatíveis com infecção pelo vírus da febre aftosa, fato reforçado pela ausência de formação de *clusters* em raios inferiores a 30 km.