

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**SOROPREVALÊNCIA DA BRUCELOSE CANINA PARA *B. canis* e *B. abortus* E AVALIAÇÃO SOROLÓGICA DOS HUMANOS CONTACTANTES  
DA CIDADE DE MARÍLIA-SP**

**CATIA REGINA VOSS**

**BOTUCATU – SP  
DEZEMBRO, 2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**SOROPREVALÊNCIA DA BRUCELOSE CANINA PARA *B. canis* e *B. abortus* E AVALIAÇÃO SOROLÓGICA DOS HUMANOS CONTACTANTES  
DA CIDADE DE MARÍLIA-SP**

**CATIA REGINA VOSS**

Dissertação apresentada junto ao  
Programa de Pós Graduação em  
Medicina veterinária para Obtenção  
do título de Mestre

Orientador: Profa.Dra.Jane Megid

**BOTUCATU – SP  
DEZEMBRO, 2008**

**BANCA EXAMINADORA**

Prof.

Adjunto

Jane

Megid

---

Prof. Titular Hélio Langoni \_\_\_\_\_

Prof. Doutor Júlio César de Freitas \_\_\_\_\_

Prof. Assistente Márcio Garcia Ribeiro \_\_\_\_\_

Prof. Titular Luis Antonio Mathias \_\_\_\_\_

## **DEDICATÓRIA**

*Dedico aos meus filhos Catharina e Christiano que sempre estiveram ao meu lado, dando força e tendo paciência para que esse trabalho fosse realizado.*

*Dedico aos meus pais João e Sônia que sempre me apoiaram em todos os sentidos para que eu concluísse o curso de mestrado, “sei que vocês colocaram confiança em meu trabalho, me incentivando e cuidando da Cath e do Chris sempre que eu estava em Botucatu”.*

*Dedico a meus irmãos, Christian, Carla e Carine.*

*Dedico ao meu sobrinho Felipe.*

*Não poderia deixar de dedicar aos meus animais de estimação que sempre me acompanharam nessa jornada, Sasha, Nero, Capitu, Nina, Nick, Ratuno.*

*Dedico em memória ao Bob e ao Neru.*

## **AGRADECIMENTO**

*“Seja aquele que traz a luz. Porque sua luz pode fazer mais do que iluminar seu próprio caminho. Pode realmente iluminar o mundo.”*

*Neale Donald Walsch*

*Agradeço a minha orientadora Jane Megid, a suas filhas e esposo.*

*Agradeço aos professores, Márcio Garcia Ribeiro, Antônio Carlos Paes, Hélio Langoni.*

*Agradeço ao Professores Alessandre Hataka, Claudia Fonseca, Claudia Bonini.*

*Agradeço a todos os residentes que sempre me apoiaram e me ajudaram nesse projeto.*

*Agradeço a todos os funcionários.*

*Pai... Agradeço por tudo que fez por mim nessa estrada que só me fez crescer, tanto intelectualmente, tanto como pessoa.*

*Mãe... Agradeço por não me deixar desistir quando o fardo ficava pesado de mais.*

*Catharina... Agradeço por compreender e ajudar a cuidar do seu irmão quando a mãe não estava presente.*

*Christiano... Agradeço por você sempre me apoiar e entender quando a mãe estava ausente.*

*Agradeço aos meus amigos, Camile, Audrey, Betina, Ana Paula, Thiago, Amanda, Nair, Paula, Tatiane, Elaine, Jerusa, Gabriel, Patrícia, Kristian, Milena, Gustavo, Mariana, Alexandra, Borin, Marta, Silvana, Kaike, Leila, Vanessa, Rodrigo, Fábio, Francisco, Rafael e Simone.*

*Agradeço em especial ao apoio e a amizade da Audrey, Ana Paula, Thiago, Betina, Nair e Vanessa.*

*Agradeço aos meus familiares... Felipe, Carla, Daniel, Christian, Natalia, Carine, Marcos, Cida, Carlos, Sandra, Wilson, Filomena, Luiz, Rosana, Nathalia, Guilherme, Rafael, Edite, Tarcisio, Tarcisio Filho, Rossano, Kleber, Laura, Hugo, Bruno, Magno, Rosane, Luis, Fátima, André, Bruno.*

*Agradeço em memória Celestina e Francisco...*

*Agradeço a Deus e a Nossa Senhora por me darem força e proteção...*

## EPÍGRAFE

*“Não sei se a vida é curta ou longa para nós, mas sei que nada do que vivemos tem sentido se não tocarmos o coração das pessoas. Muitas vezes basta ser: colo que acolhe, braço que envolve, palavra que conforta, silêncio que respeita, alegria que contagia, lágrima que corre, olhar que acaricia, desejo que sacia, amor que promove. E isso não é coisa de outro mundo, é o que dá sentido à vida. É o que faz com que ela não seja nem curta, nem longa demais, mas que seja intensa, verdadeira, pura enquanto durar. Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”*

*Cora Coralina*

## RESUMO

VOSS,C.R.; **Soroprevalência da brucelose canina para *B. canis* e *B. abortus* e Avaliação Sorológica dos Humanos Contactantes da Cidade de Marília-SP.** 2008, p, dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, SP.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a prevalência da brucelose canina na cidade de Marília e a positividade sorológica em seres humanos contactantes. Foram pesquisados soros de 550 animais da espécie canina, provenientes da zona urbana da cidade de Marília - SP, distribuídos estrategicamente nos setores Norte, Sul, Leste e Oeste.

As 550 amostras de cães foram submetidas a soro aglutinação rápida em cartão (SAR) com o antígeno de *B. ovis* para o diagnóstico de *B. canis*, e a prova do antígeno tamponado acidificado (AAT) e 2-Mercaptoetanol (2-ME) para diagnóstico de *B. abortus*. Os soropositivos foram identificados e os domicílios visitados para colheita de sangue dos humanos contactantes, os quais foram submetidos às mesmas provas sorológicas.

Das amostras de cães, 38 (6,91%) foram positivos para *B. canis* e 16 (2,91%) foram positivos para *B. abortus*, e seis (1,1%) foram positivos para ambas as espécies de brucela.

Das 79 amostras de soro humano, 50 (63,29%) foi realizada pesquisa para *B. canis* e 79 (100%) para *B. abortus*, não se obtendo resultado positivo para qualquer uma das brucelas.

A prevalência da brucelose canina causada pela *Brucella canis* em Marília estimada em 6,91% e pela *Brucella abortus* em 2,91%. A ausência de positividade em humanos está provavelmente associada com a ausência dos fatores considerados envolvidos na infecção em seres humanos.

**Palavras - chave:** *Brucella canis*, *Brucella abortus*, Epidemiologia, Seres Humanos, Sorologia e Zoonose.

## ABSTRACT

VOSS, C.R.; **Seroprevalence of canine brucellosis for *B. canis* and *B. abortus* and serological evaluation of contactants humans in the city of Marília- SP.** 2008, p, dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, SP.

The purpose of this study was to assess the prevalence of canine brucellosis in the city of Marília and seropositivity in human contacts. Sera of 550 dogs, from the urban area of Marília - SP, strategically distributed in Sectors North, South, East and West were evaluated.

The samples were submitted to rapid serum agglutination test in rapid card (RSAT) using *B. ovis* as antigen for the diagnosis of *B. canis*, and rose bengal test (RBT) and 2-Mercaptoethanol (2-ME) for diagnosis of *B. abortus*. The seropositive for the respective *Brucella* were identified and the homes visited to harvest the blood of human contacts, which were subject to the same serological tests.

Of the 550 samples from dogs, 38 (6.91%) were positive for *B. canis* and 16 (2.91%) were positive for *B. abortus*, and of these, six dogs (1.1%) were positive for both species of *Brucella*.

Of the 79 samples of human serum, 50 (63.29%) was evaluated for *B. canis* and 79 (100%) for *B. abortus*, without positive results for any of *Brucella*.

The prevalence of canine brucellosis caused by *Brucella canis* in Marília is 6.91% and for *Brucella abortus* 2.91%.

The absence of positivity in humans is probably associated with the absence of factors considered involved in infection in humans.

**Keywords:** *Brucella canis*, *Brucella abortus*, Epidemiology, Human, Serology and Zoonosis.

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Amostras de cães positiva para *B. canis* e *B. abortus* no município de Marília-SP no ano de 2004.....30

TABELA 2 Resultados do teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e teste exato de Fisher em relação as variáveis analisadas para a determinação dos fatores de risco para *B. canis* em 550 amostras de soro de cães no município de Marília-SP no ano de 2004.....33

TABELA 3 Resultados do teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e teste exato de Fisher em relação as variáveis analisadas para a determinação dos fatores de risco para *B. abortus* em 550 amostras de soro de cães no município de Marília-SP no ano de 2004.....34

TABELA 4 Resultados da positividade dos 79 seres humanos contactantes aos cães positivos para *B. canis* e *B. abortus* considerando os fatores envolvidos na transmissão cão/homem no município de Marília-SP no ano de 2004.....35

## SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
LISTA DE TABELAS.....	9
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3 OBJETIVOS.....	22
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 MATERIAL.....	23
4.1.2 ANIMAIS.....	23
4.1.3 HUMANOS CONTACTANTES.....	23
4.1.4 ANTÍGENO.....	23
4.1.4.1 ANTÍGENO PARA PROVA DO ANTÍGENO ACIDIFICADO TAMPONADO (AAT).....	23
4.1.4.2 ANTÍGENO PARA PROVA DE SOROAGLUTINAÇÃO RÁPIDA PARA <i>B. canis</i> (D-TEC®CB).....	23
4.1.4.3 ANTÍGENO PARA A PROVA DA SOROAGLUTINAÇÃO LENTA E 2-MERCAPTOETANOL.....	24
4.2 MÉTODOS.....	24
4.2.1 PROVA DO ANTÍGENO ACIDIFICADO TAMPONADO (AAT).....	24
4.2.2 PROVA DE SORO AGLUTINAÇÃO RÁPIDA EM CARTÃO (AAT).....	24
4.2.3 PROVA DE SOROAGLUTINAÇÃO COM 2-ME.....	25
4.2.4 PROVA DE SOROAGLUTINAÇÃO LENTA.....	25
4.2.5 PROVA DO 2-MERCAPTOETANOL.....	26
4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	27
4.3.1 LOCALIZAÇÃO E PERÍODO DE COLHEITA.....	27
4.3.2 COLHEITA DO MATERIAL.....	28
4.3.3 IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	28
4.3.4 LOCAL DE REALIZAÇÃO DAS PROVAS SOROLÓGICAS.....	28
4.3.5 VARIÁVEIS ASSOCIADAS AOS FATORES DE RISCO.....	28

4.3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
5 RESULTADOS.....	30
6 DISCUSSÃO.....	36
7 CONCLUSÃO.....	41
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
9 TRABALHO CIENTÍFICO.....	52
ANEXO 1 NORMAS DO TRABALHO PARA PUBLICAÇÃO.....	67
ANEXO 2 QUESTIONÁRIO APLICADO AO PROPRIETÁRIO NA CAMPANHA DE VACINAÇÃO ANTI-RÁBICA.....	77
ANEXO 3 QUESTIONÁRIO APLICADO AO PROPRIETÁRIO NO DOMICILIO DO CÃO POSITIVO.....	79

## 1 INTRODUÇÃO

Tendo em vista o estreito contato entre a população de cães e os seres humanos e principalmente a existência de um grande número de animais semi-domiciliados nos grandes centros, particularmente nas áreas de periferia, a existência de mais um agente etiológico como a *Brucella canis* com características de zoonose, representa uma grande preocupação para as autoridades sanitárias (CORTES et al., 1988).

A brucelose canina além do seu caráter zoonótico tem grande importância econômica, especialmente para os criadores de cães, por acometer um grande número de animais (CARMICHAEL, 1976). Os cães também são suscetíveis à infecção pela *B. abortus* principalmente quando em contato com espécies potencialmente acometidas como a bovina (FORBES, 1990).

A *B. abortus* nos cães é de ocorrência esporádica e geralmente resulta do contato de cães da zona rural com produtos de origem animal contaminado ou da ingestão de restos placentários e de fetos abortados (CARMICHAEL & GREENE, 1998).

Atualmente a participação dos cães no meio familiar é muito intensa, evidenciada principalmente pelo estreito contato entre esses e as crianças, se faz necessário maiores pesquisas sobre as *Brucelas*, sua prevalência nos cães e nos humanos contactantes.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A brucelose canina é uma doença infecto-contagiosa causada por bactérias do gênero *Brucella*, tendo como principal agente etiológico a *Brucella canis* (GREENE, 2006). Esporadicamente os cães podem se infectar por *B. abortus* em ambientes rurais, quando em contato com espécies potencialmente acometidas como a espécie bovina (FORBES, 1990), através de produtos de origem animal contaminado ou da ingestão de restos placentários e de fetos abortados (CARMICHAEL & GREENE, 1998). Existem relatos de infecção em cães por *B. suis* e *B. melitensis* (PRIOR et al., 1976).

*B. canis* e *B. abortus* são bactérias que provocam doença crônica, caracterizada por apresentar comprometimento dos tecidos linfóides, aborto em fêmeas no terço final de gestação e atrofia testicular, orquite, epididimite e infertilidade nos machos (CARMICHAEL & KENNEY, 1970; BICKNELL et al., 1976; CARMICHAEL & JOUBERT, 1988).

No cão, a brucelose caracteriza-se como doença infecto-contagiosa crônica, de distribuição mundial, que acomete os canídeos urbanos e de áreas rurais (PAULIN, 2003), e também o homem, sendo considerada uma importante zoonose (ACHA & SZYFRES, 2001; GOMEZ et al., 2008). Tem caráter ocupacional quando se tratando da *B. abortus* (COUTO & PEDROSO, 2003); casos relatados em humanos estão associados ao fator de risco ocupacional para médicos veterinários, tratadores de animais e funcionários de frigoríficos (MITKA et al., 2007; MOSAYEBI et al., 2005; ACHA & SZYFRES, 2003).

São bactérias intracelulares, cocobacilos gram-negativos, imóveis, de pequena dimensão, aeróbios, não capsulados, não possuem flagelos, ou esporos (CARMICHAEL & BRUNER, 1968; CORBEL et al., 1984; PESSEGUEIRO, 2003).

Possuem parede celular composta de lipopolissacarídeos antigênicos, responsáveis pela resposta dos anticorpos; Os lipopolissacarídeos das cepas rugosas de *B. canis* similar a *B. ovis* são constituídos por lipídio A, ácido graxo, glicose, manose, quinosamina estando ausente à cadeia O (CARMICHAEL &

BRUNER, 1968; ALTON et al., 1988). É produtora de urease, e oxidase positiva, redutora de nitratos e H<sub>2</sub>S (sulfeto de hidrogênio) negativa (ALTON et al., 1976; JONES et al., 1968).

As *Bruceas* lisas, no caso a *B. abortus* possuem uma membrana citoplasmática interna, um espaço periplasmático contendo uma camada de peptídeoglicano e uma parede externa, onde existe uma estrutura formada por moléculas de constituição lipopolissacarídea, o LPS, composta pelos lipídeos A, um oligossacarídeo central e uma cadeia polissacarídica exposta denominada cadeia O, associadas aos tipos A ou M (MORENO et al., 1998).

O cão parece ser mais resistente à infecção por *Bruceas* lisas, sendo raras as manifestações clínicas decorrentes da infecção (AZEVEDO et al., 2003), *B. canis* é considerada uma das principais doenças de caráter reprodutivo nos cães (KEID et al., 2006).

*B. canis* foi isolado pela primeira vez em 1966, em Nova Jersey nos Estados Unidos da América, em fluidos orgânicos e tecidos placentários de fetos abortados de animais da raça Beagle (CARMICHAEL, 1966).

No Brasil, a *B. canis* foi descrita pela primeira vez no estado de Minas Gerais por GODOY et al (1976), que dos 76 cães pesquisados verificou um soropositivo através das provas de SAR (soroaglutinação rápida) e posteriormente isolou o agente por hemocultura e o caracterizou com base nas características morfo-tintoriais, culturais e provas bioquímicas.

WALD & FERNANDES (1976) investigaram 192 cães em busca da ocorrência de *B. canis* em Porto Alegre, RS pelo teste de soroaglutinação e constataram uma soropositividade de 11,97%. Foi observada também por SANDOVAL et al., (1976), que detectaram 3,61% cães sorologicamente positivos, dentre as 221 amostras no centro de controle de zoonoses da prefeitura municipal de São Paulo e observados também em pesquisas sorológicas por MAIA et al (1999); MEGID et al (1999); ALMEIDA et al (2001); MORAES et al (2002).

LARSSON (1980), em São Paulo, através de teste sorológico e hemocultura identificou três amostras positivas para *B. canis*, sendo uma amostra de fêmea com histórico de infertilidade, e as outras duas de uma fêmea e de um macho sem sinais clínicos.

A presença de cães infectados por *B. canis* foi confirmada tanto por investigação de isolamento bacteriano (GOMES et al. 1999), como por inquérito sorológico que demonstrou a presença de anticorpos contra *B. canis* (MORAES et al. 2002).

Foram encontrados anticorpos contra *B. abortus* em soros de cães em pesquisas observadas por FORBES, (1990); AZEVEDO et al., (2003); ALMEIDA et al., (2004).

A brucelose canina causada pela *B. canis* deve ser considerada, pelo estreito contato da população canina com os seres humanos, e pela existência de um grande número de animais semi-domiciliados nos grandes centros, particularmente nas áreas de periferia. Essa doença é uma importante zoonose de grande preocupação para as autoridades sanitárias (CORTES et al., 1988); e de importância econômica especialmente para criadores de cães, por acometer um grande número de animais (CARMICHAEL, 1976; ACHA & SZYFRES, 2001), tendo uma elevada ocorrência em canis comerciais (LARSSON et al., 1980).

A presença de apenas uma parte da população positiva para *B. canis* é o suficiente para se considerar um problema de importância epidemiológica (LEWIS & ANDERSON, 1973) e principalmente pelo estreito contato entre cães e crianças no ambiente familiar, sendo de grande importância conhecer os níveis de prevalência em cidades com alta população de cães (FREDERICKSON & BARTON, 1974; BROWN et al., 1976).

A *B. canis* além de ser uma das principais causas de problemas reprodutivos em cães apresenta infecção assintomática com relevância epidemiológica (CARMICHAEL, 1990).

Alguns autores relatam que animais errantes são considerados eventos epidemiológicos relevantes para a disseminação do agente (BROWN et al., 1976); uma alta prevalência tem sido relatada em animais sem raça definida (FREDRICKSON & BARTON, 1974).

FEITOSA et al., (1991) realizaram um levantamento sorológico no período de 1977 a 1987 em São Paulo, onde observaram 3,61% de positividade para *B. canis* das 78 amostras de cão examinadas.

Uma pesquisa realizada no município de Uruguaiana - RS demonstrou que das 95 amostras de cães oriundas da zona urbana, 7,4% apresentavam anticorpos anti-*B. canis* (POESTER et al., 1994).

Estudos sorológicos em cães demonstraram freqüência de infecção por *B. canis* entre 0,84% em inquéritos sorológicos (MORAES et al., 2002) e 58,3% na sorologia em canis de criação (FERREIRA et al., 2003).

A transmissão da bactéria pode ser por via vertical (transplacentária e lactação), o que pode resultar em nascimento de cães debilitados; e por via horizontal, ocorrendo com maior freqüência no período de acasalamento dos cães; pode também ocorrer pela ingestão ou inalação de aerossóis provenientes de fetos abortados ou secreções de abortamento. Em machos o sêmen e a urina são bastante infectantes, pois podem albergar uma grande quantidade de *Bruceas* (CARMICHAEL & JOUBERT, 1988).

A enfermidade se distribui com maior freqüência no período de acasalamento, devido a grande disseminação venérea da bactéria, desencadeando um grande problema para a população de cães sem domicílio, que se infectam e transmitem a doença durante esta época (CARMICHAEL & JOUBET, 1988; FLORES-CASTRO et al., 1977).

Secreção vaginal, juntamente com restos de abortos dos cães doentes, é o material de maior risco na transmissão do agente para os próprios cães e para animais de produção (FORBES, 1990).

Os animais assintomáticos apresentam bacteremia prolongada sem febre, que podem durar anos sem ser notados (CARMICHAEL & GREENE, 1990).

Os sinais clínicos apresentados por animais acometidos não são patognomônicos, podendo estar presentes em uma grande variedade de doenças; perda de brilho no pêlo, linfadenopatia generalizada e inapetência podem ser notadas em alguns animais. Os sinais mais específicos no cão são alterações clínicas compatíveis com *B. canis* estando geralmente associadas com o aparelho genital tanto nos machos como nas fêmeas; o principal sinal clínico nas fêmeas é o abortamento no terço final de gestação seguido por corrimento vaginal prolongado (CARMICHAEL & KENNEY, 1968); Nos machos são observados normalmente epididimite, orquite, prostatite e atrofia testicular (MOORE & KAKUK, 1969).

Outras alterações como discoespondilite podem ocorrer (SMEAK et al., 1987), meningoencefalite difusa, uveíte recorrente (GREENE, 2006), esplenomegalia e hepatomegalia também podem ser observados nos cães doentes (CARMICHAEL & KENNEY, 1970).

Clinicamente, o diagnóstico da enfermidade na espécie canina é dificultado pela falta de sinais específicos e casos assintomáticos (GEORGE & CARMICHAEL, 1974; CARMICHAEL, 1976 BERTHELOT & GARIN-BASTUFI, 1996).

É comum não encontrar alterações nos parâmetros hematológicos, bioquímicos e urinálise (JOHNSON & WALKER, 1992; MEGID et al., 2000); Entretanto, em cães com doença crônica, pode ser observado hipoglobulinemia (SOUZA et al., 2002; GREENE, 2006).

Devido à praticidade, os testes sorológicos são os mais comumente usados para o diagnóstico da infecção em cães. As suas vantagens em relação ao isolamento bacteriano são: facilidade na execução, rápido processamento e a possibilidade do exame de um número considerável de amostras (IRIBARREN et al., 1999; CARMICHAEL et al., 1968; ALMEIDA et al., 2001).

O cultivo bacteriano fornece um diagnóstico definitivo quando a bactéria é isolada; no entanto, é um procedimento muito laborioso, demorado podendo ocorrer resultados falso-negativos (KEID, 2001).

Amostras lisas de *Brucella*, como a *B. abortus* utilizadas para diagnóstico da brucelose bovina, não são capazes de detectar anticorpos anti-*B. canis*, sendo necessária a utilização de antígenos preparados com *B. canis* ou *B. ovis*, para o diagnóstico da brucelose canina (CARMICHAEL, 1990).

A soroaglutinação rápida em cartão é o teste sorológico mais comumente utilizado na triagem das infecções por *B. canis*, rápido e de fácil execução, podendo ser realizado em qualquer clínica veterinária (CARMICHAEL & SHIN, 1996). Além de apresentar estas vantagens sobre os outros testes, inclui a precocidade no diagnóstico, pois já revela anticorpos a partir de três a quatro semanas da infecção (CARMICHAEL & GREENE, 1998).

Dados epidemiológicos através da sorologia permitem avaliar a disseminação na espécie canina, bem como na população humana (GOMES et al., 1999). A identificação dos cães doentes é importante, pois esses animais representam fontes de infecção, uma vez que podem eliminar o agente no

ambiente pela urina, por ejaculados, por secreções vaginais, por fetos abortados ou pelas fezes (BAEK et al., 2003).

Além da grande importância econômica para criadores de cães, o caráter zoonótico da doença também deve ser considerado em virtude da complexa relação da população canina com os seres humanos (CAVALCANTI et al., 2006).

Os dois primeiros casos de infecção humana por *B. canis* foram observados por CARMICHAEL et al., (1968), nos Estados Unidos, tendo como causa acidentes de laboratório após manipulação de antígeno.

A transmissão nos humanos ocorre por contato direto com cães infectados, por inalação e inoculação acidental (KELLEY, 1990).

No homem o primeiro sinal da doença é a febre, seguida por cefaléia, meningite, mialgias, dermatite, linfadenopatia, podendo apresentar sinais neurológicos e também poliartrites (ACHA & SZYFRES, 2001); linfadenopatia (LARSSON, 1980); As raras complicações incluem endocardite, miocardite, pericardite e abscessos viscerais (GREENE, 2006).

A maioria dos quadros de brucelose humana esta associado à infecção por *B. abortus*, manifestando-se, sob a forma de febre, mialgias, cefaléia, dermatite, linfadenopatia e ocasionalmente poliartrites (ACHA & SZYFRES, 2001).

As complicações quando existem, incluem endocardite, miocardite, pericardite, meningite, artrite, hepatite e abscessos viscerais. Essa doença é de caráter principalmente ocupacional, estando mais sujeitos à infecção as pessoas que trabalham diretamente com animais infectados ou que trabalham com produtos de origem animal (COSTA, 2001). A endocardite é rara em pacientes humanos positivos para *B. abortus*, mas deve ser levada em consideração em pacientes que apresentam endocardite não responsiva aos tratamentos convencionais (DRAGOSAVAC et al., 2007).

SANTOS-NETO et al (1999) relataram um caso de abscesso esplênico por infecção de *B. abortus* em um homem de 23 anos, trabalhador da zona rural.

FONSECA et al., (1999), examinaram 383 amostras de soros de humanos na cidade de Belém-PA, e observaram 14,62% de positivos para *B. canis* no teste de imunodifusão em ágar de gel. No mesmo estudo utilizaram

soroaglutinação lenta (SAL), fixação de complemento, e ELISA para diagnóstico de *B. abortus* e os resultados obtidos foram 5,2%, 16,7% e 7% respectivamente.

LEWIS & ANDERSON (1973) analisaram 1208 soros de soldados militares obtendo cinco positivos para *B. canis*.

OLIVEIRA et al., 1999 pesquisaram 101 amostras de soro de trabalhadores de um matadouro e obtiveram 10,98% de positividade para *B. abortus*, utilizando para o diagnóstico o AAT e a SAL.

LARSSON, (1980) e ZAMORA & ALONSO, (1987) utilizaram para diagnóstico de *B. canis* a mesma prova e antígeno, a SAL e antígeno de *B. canis* cepa RM 6/66 onde cada estudo foram obtidos os seguintes resultados em soros humanos 3/79 (3,79%) e 4/330 (1,21%) positivos respectivamente.

Os testes que detectam anticorpos contra antígenos de superfície da *B. canis* são a soroaglutinação rápida em lâmina (SAR) e soroaglutinação lenta em tubo (SAL) (JOHNSON & WALKER, 1992). Ambos são testes sensíveis e detectam animais recentemente infectados, sendo indicados para procedimentos de triagem (JOHNSON & WALKER, 1992; CARMICHAEL & SHIN, 1996).

Na SAR é utilizado um antígeno elaborado com a *B. ovis* corado com rosa de bengala. Porém, os resultados positivos devem ser interpretados com cautela, pois uma proporção significativa de resultados falsos positivos pode ocorrer nesse teste (GEORGE & CARMICHAEL, 1978).

Animais positivos na SAR não podem ser considerados infectados antes de serem submetidos a um teste confirmatório. Para diminuir o número de reações falso-positivas, alguns testes incluíram o tratamento prévio dos soros com 0,2M de 2-mercaptoetanol (2ME) que elimina a interferência de IgM não específica, aumentando a especificidade sem alterar a sensibilidade do teste. Pelo fato de serem decavalentes, as moléculas de IgM, possuem maior avidéz que a moléculas de IgG, que são bivalentes. O 2ME desnatura a IgM pela destruição das pontes dissulfídicas, minimizando, assim, as ligações inespecíficas (JOHNSON & WALKER, 1992; CARMICHAEL & SHIN, 1996).

O teste de imunodifusão utilizando antígeno citoplasmático, atualmente, é o método mais específico para a detecção de *Brucella* sp rugosas. Utiliza extrato protéico do citoplasma bacteriano da *B. canis* e apresenta menor

proporção de reações cruzadas. Uma grande vantagem da IDGA utilizando antígenos citoplasmáticos é a possibilidade de diagnosticar animais cronicamente infectados, permitindo a detecção de anticorpos circulantes até 36 meses após a bacteremia ter cessado, quando outros testes apresentam resultados negativos (JOHNSON & WALKER, 1992).

Entretanto, em infecções recentes, o diagnóstico pela IDGA fica prejudicado, pois anticorpos circulantes são detectados somente a partir de 8 a 12 semanas após a infecção, ou seja, 4 semanas mais tarde do que a detecção pela SAL/2ME (JOHNSON & WALKER, 1992; CARMICHAEL, 1988; CARMICHAEL & GREENE, 1998).

Para o diagnóstico da brucelose por *B. abortus* deve-se empregar testes de triagem que possuam alta sensibilidade. O diagnóstico da doença é feito pela associação de dois testes sorológicos em série. O teste do antígeno acidificado tamponado (AAT), considerado um teste que se adapta bem à triagem por ser rápido e de alta sensibilidade, sendo que seus resultados podem ser obtidos no mesmo dia da chegada da amostras de soro ao laboratório. As provas complementares no diagnóstico de brucelose são a prova de soroaglutinação lenta com 2-mercaptoetanol (2ME), a de fixação de complemento e as de Elisa (OLASCOASGA, 1976; CARMICHAEL, 1990).

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina e Bubalina preconizam as seguintes provas, AAt, 2-ME e fixação de complemento (BRASIL, 2006).

Uma das principais estratégias para o controle e a erradicação da brucelose canina é a identificação, e posteriormente a castração e separação desses animais infectados (MIRANDA et al., 2005).

Geralmente, a remoção dos animais infectados, a limpeza e a desinfecção de locais contaminados (eliminar toda matéria orgânica antes da aplicação dos produtos é essencial para que atinjam sua total eficácia) e o vazio sanitário de no mínimo dois meses são suficientes para evitar a sua transmissão (GRASSO-PAULIN, 2000).

Deve-se ressaltar que a higiene geral é extremamente importante para a prevenção da brucelose canina, principalmente para cães de domicílio, devendo ser evitados os contatos diretos, como beijos etc. (FONSECA et al., 1999).

CARMICHAEL (1990) ressaltou o risco para a saúde pública da terapia de cães com brucelose.

Considerando o fato de que a grande maioria dos cães infectados por *Brucella canis* e *B. abortus* são assintomáticos e diante do potencial zoonótico da brucelose, entende-se que é grande o risco de transmissão quanto para outros cães, mas principalmente para os seres humanos (MORAES et al., 2002).

ROXO et al., (1990), em São Paulo, SP, relataram um caso de brucelose por *B. canis* em um adolescente de 14 anos onde a suspeita caía sobre uma cadela da raça Doberman, adulta, com quatro anos de idade e positiva à sorologia de *B. canis*, com a qual o mesmo praticava zoerastia. O adolescente apresentava febre alta, sudorese profusa, fortes sensação de cansaço, sintomas psicóticos, com quadro depressivo com episódios de histerismo, confusão mental, rigidez na nuca e priapismo.

A brucelose canina causada pela *B. canis* e também por *B. abortus* vem sendo relatada com mais freqüência em nosso país, caracterizando a incidência da enfermidade e chamando a atenção para os riscos a saúde pública.

### 3 OBJETIVOS

Avaliar a prevalência da infecção por *Brucella canis* e *Brucella abortus* na população de cães na cidade de Marília – SP no ano de 2004, e posterior positividade nos humanos contactantes ao cão positivo.

Identificar os fatores de risco significantes para *B. canis* e *B. abortus* nos cães positivos.

Avaliar a positividade para os seres humanos contactantes com os cães positivos considerando os fatores envolvidos na transmissão cão/homem.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAL**

#### **4.1.2 ANIMAIS**

Foram pesquisados soros de 550 animais da espécie canina, provenientes da zona urbana da cidade de Marília – SP. Os soros foram obtidos durante a campanha de vacinação anti-rábica no ano de 2004.

A escolha dos animais foi aleatória, independentemente de raça, sexo, idade e sintomatologia clínica e mediante o termo de anuência do proprietário.

#### **4.1.3 HUMANOS CONTACTANTES**

Foi requerida uma autorização junto a Secretaria Municipal da Saúde da Prefeitura Municipal de Marília-SP, para rastreamento e colheita de sangue dos humanos contactantes aos animais positivos para *Brucella canis* e *Brucella abortus*.

De forma similar foram colhidos sangue dos humanos contactantes ao animal soropositivo, somente com autorização por escrita do mesmo.

#### **4.1.4 ANTÍGENOS**

##### **4.1.4.1 ANTÍGENO PARA PROVA DO ANTIGENO ACIDIFICADO TAMPONADO (AAT)**

Constituído por *B. abortus* inativada (amostra 1119-3) corada com rosa bengala, diluído a 8% em solução tampão com pH 3,65 e produzido pelo Instituto Tecnológico do Paraná (TECPAR).

##### **4.1.4.2 ANTÍGENO PARA PROVA DE SOROAGLUTINAÇÃO RÁPIDA PARA *B. canis* (D-TEC®CB)**

Antígeno de *B. ovis* inativado e corado com rosa bengala para soroaglutinação rápida em cartão (SAR), produzido pelo laboratório Pitman-Moore nos EUA e comercialmente conhecido como D-Tec<sup>®</sup>CB.

#### **4.1.4.3 ANTÍGENO PARA PROVA SOROAGLUTINAÇÃO LENTA E 2-MERCAPTOETANOL**

Antígeno de *B. abortus* amostra 1119-3 produzido pelo Instituto tecnológico do Paraná (TECPAR).

## **4.2 MÉTODOS**

### **4.2.1 PROVA DO ANTIGENO ACIDIFICADO TAMPONADO (AAT)**

Realizada com base na metodologia do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina e Bubalina (PNCEBT) (BRASIL, 2006),

O soro e o antígeno permaneceram em temperatura ambiente por 30 minutos antes de se realizar a prova.

Depositou-se em placa quadriculada padrão, 30 µL do soro a ser testado e ao seu lado 30 µL do antígeno. A homogeneização do soro e antígeno foi realizada com bastão de vidro, formando círculos de, aproximadamente, 2 cm de diâmetro. A placa foi agitada com movimentos oscilatórios, numa frequência de aproximadamente 30 movimentos por minuto, de modo a permitir que a mistura soro-antígeno fluísse lentamente dentro de cada círculo. A placa foi agitada continuamente por 4 minutos.

A leitura foi realizada após o término deste período e os resultados interpretados, a partir da reação de aglutinação, indicados pela formação de grumos nos animais positivos e ausência dos mesmos nos animais negativos.

As reações de aglutinação que ocorreram após os 4 minutos foram desconsideradas.

### **4.2.2 PROVA DE SOROAGLUTINAÇÃO RÁPIDA EM CARTÃO (SAR)**

Foi realizada com base na metodologia preconizada pelo laboratório produtor (Pitman-Moore) como exposto abaixo:

Foram utilizados 30 $\mu$ L do soro e 30 $\mu$ L do antígeno, homogeneizados por 10 a 15 segundos e mantidos em repouso por 2 minutos. Logo em seguida foi observada presença ou ausência de grumos, caracterizando, respectivamente, positividade ou negatividade da reação. O soro que não apresentava aglutinação era considerado negativo e o que apresentava reação era submetido a SAR com 2-Mercaptoetanol, para confirmação de positividade.

#### **4.2.3 PROVA DE SOROAGLUTINAÇÃO RÁPIDA EM CARTÃO COM 2ME**

Os soros positivos para SAR foram tratados com solução 0,2M de 2-ME. Em um tubo de vidro foram colocadas 2 gotas do soro e 2 gotas da solução de 2-ME, e procedida à homogeneização sendo aplicada a mesma técnica descrita anteriormente na SAR.

#### **4.2.4 PROVA DA SOROAGLUTINAÇÃO LENTA**

A metodologia foi baseada na técnica descrita pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina e Bubalina (PNCEBT) (BRASIL, 2006).

Utilizou-se antígeno constituído de uma suspensão inativada de *B. abortus* amostra (1119-3), na concentração de 4,5%.

O soro e o antígeno permaneceram por 30 minutos em temperatura ambiente antes da realização da prova.

O antígeno para soroaglutinação lenta em tubos foi diluído 100 vezes em solução salina a 0,85% contendo 0,5% de fenol, sendo a concentração final de 0,045%.

Foram utilizados tubos de vidro dispostos em estantes apropriadas, sendo que, no primeiro tubo, foi colocado 0,08mL de soro, no segundo tubo, 0,04mL, do terceiro, 0,02, no quarto, 0,01mL; agregou-se a cada um dos quatro tubos 2mL do antígeno.

As misturas foram homogeneizadas e as estantes com as amostras incubadas, em estufa, à temperatura de 37°C, por um período de 48 horas, quando se procedeu a leitura.

Foram consideradas como reação completa aquela em que líquido da mistura soro-antígeno aparece translúcida e a agitação suave não rompe os grumos, reação incompleta foi considerada quando a mistura aparecia parcialmente translúcida e uma suave agitação não rompia os grumos e reação negativa onde a mistura aparecia opaca ou turva e uma agitação suave não revelava os grumos. Foram utilizados soros controles positivos e negativos.

#### **4.2.5 PROVA DO 2-MERCAPTOETANOL**

A metodologia foi baseada na técnica descrita pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina e Bubalina (PNCEBT) (BRASIL, 2006).

O antígeno para soroaglutinação lenta em tubos foi diluído 50 vezes em solução salina a 0,85% sem adição de fenol, sendo a concentração final de 0,09%.

A solução de 2 ME a 0,1 M foi preparada misturando-se 7,8mL de 2-ME a 992,20mL de solução salina 0,085% sem fenol, ou volumes menores, proporcionalmente.

Foram utilizados tubos de vidro dispostos em estantes apropriadas, sendo que, no primeiro tubo, foi colocado 0,08mL de soro, no segundo tubo, 0,04mL, do terceiro, 0,02, no quarto, 0,01mL aos quais agregou-se 1mL de solução de 2-ME 0,1M (diluído em salina sem fenol)

As misturas foram homogeneizadas e as estantes com as amostras deixadas em repouso durante 30 minutos a temperatura ambiente. Após os 30 minutos, utilizando-se outro dispensador automático ou outra pipeta de 10mL, agregou-se a cada tubo da fileira 1mL do antígeno diluído 1:50 (0,09% de células) em solução salina fisiológica (sem fenol), sendo a concentração final do antígeno na solução de 0,045% e do 2-ME de 0,05M.

As misturas foram homogeneizadas e incubadas à temperatura de 37°C por um período de 48 horas, sendo então realizada a leitura dos mesmos.

Foi considerado como reação completa aquelas em que líquido da mistura soro-antígeno apareça translúcida e a agitação suave não rompe os grumos, reação incompleta foi considerada quando a mistura aparecia parcialmente translúcida e uma suave agitação não rompia os grumos e reação negativa onde a mistura aparecia opaca ou turva e uma agitação suave não revelavam os grumos. Foram utilizados soros controles positivos e negativos como controle da reação.

Em relação às amostras dos cães, as que apresentaram reação na prova do ATA foram submetidas a SAL/2-ME. Soros humanos foram avaliados pelo ATA e em seguida submetidos a aquecimento a 56° por 30 ´para inativação do complemento e posteriormente processados por SAL/2-ME.

### **4.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

#### **4.3.1 LOCALIZAÇÃO E PERÍODO DE COLHEITA**

A colheita do material foi realizada no mês de Agosto de 2004 durante a campanha de vacinação anti-rábica na cidade de Marília-SP.

Para a realização da pesquisa, a quantidade de animais foi baseada em 1% da prevalência da doença e aplicada no número de cães vacinados na campanha de vacinação do ano anterior, em 2003, totalizando desta forma 550 animais. Essa porcentagem foi aplicada nas quatro zonas estudadas, separadamente em cada posto de vacinação para que houvesse uma distribuição uniforme.

A cidade estava dividida em setores para a campanha e foram definidos em Norte, Sul, Leste e Oeste correspondendo a um determinado número de postos. A Zona Sul correspondeu a 15 postos onde foram colhidos soros de 136 animais; a Zona Norte, a 17 postos onde foram colhidos soros de 140 animais; a Zona leste a 16 postos onde foram colhidos 136 soros; e a Zona Oeste a 16 postos onde foram colhidos 138 soros.

A determinação do número dos humanos contactantes, só foi possível após os resultados da pesquisa com os cães.

A partir dos diagnósticos dos cães positivos, os contactantes foram visitados em suas residências com autorização da Secretaria da Saúde de Marília-SP, para realização da colheita de sangue. Imediatamente após a mesma, esse material foi levado para um laboratório clínico onde foi obtido o soro, congelado a menos 20°C para a futura realização dos testes sorológicos.

Foram aplicados dois questionários epidemiológicos, um no local da colheita dos animais e o outro na residência dos proprietários contactantes com os cães positivos, com a finalidade de avaliar o grau de contato entre os humanos contactantes e o animal soropositivo.

#### **4.3.2 COLHEITA DO MATERIAL**

A colheita de sangue dos cães foi realizada através de seringas de 10mL, em veia jugular ou cefálica após assepsia prévia, sendo colocado em tubo de ensaio (30 x 8) e mantido em estante em repouso à temperatura ambiente para que obtenção do o soro. Após, os soros foram congelados a menos 20°C até a realização dos testes.

A colheita de sangue, nos humanos contactantes foi realizada após assepsia da veia cefálica por um técnico em enfermagem, sendo utilizadas seringas descartáveis de 10mL.

O material colhido foi acondicionado em tubos de ensaio (30 x 8) e mantidos em repouso, em temperatura ambiente, para obtenção do soro num laboratório de análises clínicas. O soro obtido foi congelado a -20°C até a realização dos testes sorológicos.

#### **4.3.3 IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS**

A identificação das amostras foi realizada por meio de uma ficha preenchida pelo proprietário no ato da colheita, contendo seu nome e endereço, nome do animal, idade, sexo, raça, histórico completo, local e data da colheita. Os soros foram identificados conforme o número da ficha correspondente. Depois de obtido o diagnóstico dos cães positivos as residências dos proprietários foram visitadas e realizadas as colheitas.

#### **4.3.4 LOCAL DE REALIZAÇÃO DAS SOROLOGIAS**

Todas as provas tanto dos cães como as dos humanos contactantes foram realizadas no Laboratório de Imunologia Aplicada as Enfermidades Infecciosas dos Animais do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Veterinária e Zootecnia, UNESP- Campus de Botucatu/ SP.

#### **4.3.5 VARIÁVEIS ASSOCIADAS AOS FATORES DE RISCO**

Foram analisados os fatores de risco para *B. canis* e *B. abortus* considerando zonas, idades, sexo, raças capacidade reprodutiva, contato com animais de produção, acesso a rua, sinais reprodutivos, cruzamentos e ocorrência de abortos.

Das zonas pesquisadas 140 (25,45%) pertenciam à zona Norte; 136 (24,73%) a zona Sul; 136 (24,73%) a zona Leste; e 138 (25,09%) a zona Oeste.

A faixa etária dos animais agrupados de 0 a 1 ano 127 (23,09%), de 1 a 7 anos 334 (60,73%), e acima de 7 anos 89 (16,18%).

Das 550 amostras 315 (57,27%) pertenciam a machos e 235 (42,72%) a fêmeas.

Nas 550 amostras, houve uma variação de 24 raças e animais sem raça definida sendo que 207 (37,64%) pertenciam a animais com diferentes raças definidas e 343 (62,36%) a animais sem raça definida.

A capacidade reprodutiva nesse trabalho considera se as amostras pertenciam a animais castrados ou não. Observou-se que 4 (0,73%) pertenciam a castrados e 546 (99,27) a inteiros.

Avaliou-se também, se os animais possuíam ou não contato com animais de produção como bovinos, suínos, eqüinos, caprinos, ovinos, aves e outros. Somente 16 (2,91%) das amostras pertenciam a animais que tinham contato e 534 (97,09%) a animais que não possuíam contato.

No que se refere o acesso ou não a rua 106 (19,27%) cães tinham acesso à rua e 444 (80,73%) não tinham acesso à rua.

Dos 550 animais avaliados, 21 (3,82%) tinham histórico de alterações reprodutivas e 529 (96,18) não apresentavam relatos.

Dos 550 animais estudados, 443 (80,55) já haviam cruzado e 107 (19,45%) nunca haviam cruzado.

Do total de animais avaliados 9 (1,64%) possuíam histórico de aborto e 541 (98,36%) não.

#### **4.3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Foram considerados positivos para *B. canis* os soros que reagiram positivamente na SAR/2-ME e para *B. abortus* os que resultaram positivos na SAL com títulos no 2-ME maiores ou iguais a 25. Os resultados foram avaliados por meio do teste do Quiquadrado ( $\chi^2$ ) com suas probabilidades e o teste exato de Fisher, utilizando o Microsoft Office Excel 2003 e GraphPad InStat, adotando-se 95% de intervalo de confiança.

## 5 RESULTADOS

Das 550 amostras de cães colhidas 38 (6,91%) resultaram positivas para *B. canis* na prova do SAR/2-ME e 140 reagiram na prova do ATA para *B. abortus* e quando realizada a prova complementar 2-ME 16 (2,91%) mostraram-se positivas. Desses, seis cães (1,1%) foram positivos para ambas as espécies de *Brucella* (Tabela 1).

**TABELA 1** - Amostras de soros de cães positivas para *B. canis* e *B. abortus* no município de Marília-SP no ano de 2004

Amostras	11	13	42	84	88	95
Zonas	Norte	Norte	Norte	Norte	Norte	Norte
Idade	1,5 anos	8 meses	2 anos	4 anos	4 anos	3 anos
Sexo	Macho	Macho	Macho	Macho	Macho	Femêa
Raça	Sem Raça	Sem Raça	Sem Raça	Sem Raça	Sem Raça	Sem Raça
Reprodução	Inteiro	Inteiro	Inteiro	Inteiro	Inteiro	Castrado
Contato Com Animal de Produção	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Acesso a Rua	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não
Sinais Reprodutivos	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Cruzamentos	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Não
História Aborto	Sim	Não	Não	Não	Não	Não

Das zonas estudadas houve positividade para *B. canis* em 13 (2,36%), 18 (3,27%), 03 (0,55%) e 04 (0,73%) amostras, respectivamente. Em relação a *B. abortus* a positividade das amostras observadas na zona Norte foi de 07 (1,27%), na zona Sul 05 (0,91%), zona Leste nenhum e na zona Oeste 04 (2,91%); Os resultados obtidos foram avaliados considerando a faixa etária dos animais agrupados e foi observada positividade para *B. canis* em 6 (1,1%) animais de 0 a 1 ano, 30 (5,45%) de 1 a 7 anos e 02 (0,36%) com idade acima de 7 anos. Com relação a *B. abortus* a positividade observada foi de 1 (1,18%) animal na faixa etária de 0 a 1ano, 13 (2,36%) cães com 1 a 7 anos e 2 (0,36%) acima de 7 anos.

Em relação ao sexo houve positividade de 21 (3,82%) machos e 17 (3,09%) fêmeas para *B. canis*, e para *B. abortus* 12 (2,18%) machos e 04 (0,73%) fêmeas resultaram positivos.

Entre as raças observou-se positividade de 26 (4,74%) e 12 (2,18%) em animais com e sem raça definida respectivamente para *B. canis* e 10 (1,82%) e 6 (1,1%) respectivamente para *B. abortus*.

Observou-se que 4 (0,73%) pertenciam a castrados e 546 (99,27%) a inteiros, 37 (6,73%) e 1 (0,18%) e 1 (0,18%), 15 (2,73%) eram positivos para *B. canis* e *B. abortus* em animais castrados e inteiros respectivamente.

No que se refere aos animais que possuíam contato com animais de produção ou não, resultaram positivos para *B. canis* 5 (0,9%) contactantes e 33 (6%) não contactantes e para *B. abortus* 1 (0,18%) animal que tinha contato e 15 (2,73%) animais que não tinham contato.

Resultaram positivos para *B. canis* 13 (2,36%) dos que tinham acesso à rua e 25 (4,55%) sem acesso a rua. Para *B. abortus* 5 (0,9%) positivos possuíam acesso a rua e 11 (2%) não tinham acesso a rua.

Dos animais que possuíam história de alteração reprodutiva 20 (3,64%) e 1 (0,18) resultaram positivos para *B. canis* e *B. abortus* respectivamente. Dos animais sem histórico de alteração reprodutiva 18 (3,27%) e 15 (2,73%) resultaram positivos para *B. canis* e *B. abortus*.

Animais que haviam cruzado ou não, resultaram positivos 19 (3,45%) e 6 (1,1%) para *B. canis* e 19 (3,45%) e 10 (1,82%) positivos para *B. abortus* respectivamente.

Do total de animais avaliados 9 (1,64%) possuíam histórico de aborto e 541 (98,36%) não. Destes resultaram positivos para *B. canis* 8 (1,455%) e 30 (5,455%), respectivamente. Dos positivos para *B. abortus* 1 (0,18%) apresentaram histórico de abortamento e 15 (2,73%) não o apresentaram.

Das 79 amostras de soros humanos, 50 (63,29%) foram avaliadas para pesquisa de anticorpos para *B. canis* utilizando a prova da SAR/2-ME e 79 (100%) para *B. abortus* na prova do AAT e 2-ME, não resultando nenhum positivo para ambas *Brucelas*. Os resultados do questionário aplicado aos seres humanos contactantes, considerando os possíveis fatores envolvidos na infecção cão /homem estão apresentados na tabela 4.

**TABELA 2** - Resultados do teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e teste exato de Fisher em relação as variáveis analisadas para a determinação dos fatores de risco para *B. canis* em 550 amostras de soro de cães no município de Marília-SP no ano de 2004

Fatores de Risco	Amostras	$\chi^2$	p
	Positivos/ n <sup>o</sup> (%)		
<u>Zonas</u>			
Norte	13/140 (2,36%)	17,82	0,0005 <sup>1</sup>
Sul	18/136 (3,27%)		
Leste	3/136 (0,55%)		
Oeste	4/138 (0,73%)		
<u>Idades</u>			
0-1 ano	6/127 (1,1%)	6,18	0,0455 <sup>1</sup>
1-7 anos	30/334 (5,45%)		
>7 anos	2/89 (0,36%)		
<u>Sexo</u>			
Macho	21/315 (3,82%)	-	*0,8655
Fêmea	17/235 (3,09%)		
<u>Raças</u>			
Com Raça	26/207 (4,74%)	-	*0,0030 <sup>1</sup>
Sem Raça	12/343 (2,18%)		
<u>Reprodução</u>			
Castrado	1/4 (0,18%)	-	*0,2496
Inteiro	37/546 (6,73%)		
<u>Contato com animais de produção</u>			
Sim	5/16 (0,9%)	-	*0,0030 <sup>1</sup>
Não	33/534 (6%)		
<u>Acesso a Rua</u>			
Sim	13/106 (2,36%)	-	*0,0302 <sup>1</sup>
Não	25/444 (4,55%)		
<u>Sinais Reprodutivos</u>			
Sim	20/21 (3,64%)	-	*0,0001 <sup>1</sup>
Não	18/529 (3,27%)		
<u>Cruzamentos</u>			
Sim	19/443 (3,455%)	-	*0,0001 <sup>1</sup>
Não	19/107 (3,455%)		
<u>Aborto</u>			
Sim	8/9 (1,455%)	-	*0,0001 <sup>1</sup>
Não	30/541 (5,455%)		

p= probabilidade    \*= Teste Exato de Fisher    <sup>1</sup>= estatisticamente significativa

**TABELA 3** - Resultados do teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e teste exato de Fisher em relação as variáveis analisadas para a determinação dos fatores de risco para *B. abortus* em 550 amostras de soro de cães no município de Marília-SP no ano de 2004

Fatores de Risco	Amostras	$\chi^2$	p
	Positivos / n <sup>o</sup> (%)		
<u>Zonas</u>			
Norte	7/140 (1,27%)	6,53	0,0887
Sul	5/136 (0,91%)		
Leste	0/136 (0,00%)		
Oeste	4/138 (0,73%)		
<u>Idades</u>			
0-1 ano	1/127 (0,18%)	3,31	0,1916
1-7 anos	13/334 (2,36%)		
>7 anos	2/89 (0,36%)		
<u>Sexo</u>			
Macho	12/315 (2,18%)	-	*0,2006
Fêmea	4/235 (0,73%)		
<u>Raças</u>			
Com Raça	10/207 (1,82%)	-	*0,0630
Sem Raça	6/343 (1,1%)		
<u>Reprodução</u>			
Castrado	1/4 (0,18%)	-	*0,3806
Inteiro	15/546 (2,73%)		
<u>Contato com animais de produção</u>			
Sim	1/16 (0,18%)	-	*0,3806
Não	15/534 (2,73%)		
<u>Acesso a Rua</u>			
Sim	5/106 (0,9%)	-	*0,2083
Não	11/444 (2%)		
<u>Sinais Reprodutivos</u>			
Sim	1/21 (0,18%)	-	*0,4683
Não	15/529 (2,73%)		
<u>Cruzamentos</u>			
Sim	6/443 (1,1%)	-	*0,0002 <sup>1</sup>
Não	10/107 (1,82%)		
<u>Aborto</u>			
Sim	1/9 (0,18%)	-	*0,2349
Não	15/541 (2,73%)		

p= probabilidade    \*= Teste Exato de Fisher    <sup>1</sup>= estatisticamente significativa  
**TABELA 4** - Resultados da positividade dos 79 seres humanos contactantes aos cães positivos para *B. canis* e *B. abortus* considerando os fatores envolvidos na transmissão cão/homem no município de Marília-SP no ano de 2004

Fatores Envolvidos na Transmissão <i>B. canis</i> e <i>B. abortus</i>	Amostras
	n <sup>o</sup> / Total/ (%)
<u>Local da casa onde o animal dorme</u>	
- Dentro	0/79 (0,00%)
- Fora	79/79 (100%)
<u>Animal entra na casa</u>	
- Sim	37/79 (46,84%)
- Não	42/79 (53,16%)
<u>Local da casa onde o animal fica durante o dia</u>	
- Dentro	0/79 (0,00%)
- Fora	79/79 (100%)
<u>Limpeza cobertores/caminha/casinha</u>	
- Sempre	25/79 (31,65%)
- Raro	54/79 (68,35%)
<u>Local da casa onde o animal defeca e urina</u>	
- Dentro	0/79 (0,00%)
- Fora	79/79 (100%)
<u>Contatos próximos com os animais, beijos, abraços, pegar no colo e levarem lambidas</u>	
- Sempre	4/79 ( 5,06%)
- Raro	75/79 (94,94%)
<u>Crianças na casa</u>	
- Presença	12/79 (5,19%)
- Ausência	67/79 (84,81%)
<u>Banhos</u>	
- Sempre	6/79 (7,52%)
- Raro	73/79 (92,41%)
<u>Contato com abortos e secreções</u>	
- Sim	6/79 (7,52%)
- Não	73/79 (92,41%)

## 6 DISCUSSÃO

A brucelose canina causada pela *B. canis* e *B. abortus* tem sido identificada em várias regiões brasileiras, principalmente em estudos

sorológicos (FORBES, 1990; MAIA et al., 1999; MEGID *et al.*, 1999; ALMEIDA et al., 2001; MORAES *et al.*, 2002; AZEVEDO et al., 2003).

Diagnóstico da *B. canis*, pela prova sorológica de SAR/2-ME das 550 amostras de cães 38 (6,91%) foram positivas, resultado esse próximo ao encontrado por GERMANO et al., (1987) onde observaram das 352 amostras de cães colhidas na campanha de vacinação anti-rábica em 1981 na cidade de Campinas - SP, obtiveram 5,4% de positivos, e também similares ao observado em inquérito sorológico realizado por ALMEIDA et al., (2001) que relataram 4,9% de positividade para *B. canis* na SAR das 102 amostras analisadas. Discordam, no entanto, do inquérito sorológico realizado por MORAES et al., (2002) que em 1072 amostras obtiveram 9 (0,84%) positivos na SAR, percentual baixo quando comparado ao presente trabalho.

FREDERICKSON & BARTON (1974) e BROWN et al (1976) observaram através de provas sorológicas 1,9% e 1% respectivamente de positividade para *Brucella canis* em cães de estimação, mostrando percentuais inferiores aos encontrados no presente trabalho.

Esta baixa prevalência se justifica frente ao observado em canis de criação onde os valores de soroprevalência são elevados para *B. canis* como o foram observados por MEGID et al., (1999).

O diagnóstico para *B. abortus* realizado por meio do ATA e SAL/2-ME caracterizaram 16 (2,91%) animais positivos; resultados esses similares aos encontrados no Chile por MOLNAR et al., (2001) que observaram 2,8% de positividade. MAIA et al., (1999) no Rio e Janeiro avaliaram 171 cães não obtendo resultados positivos, resultado também encontrado por ALMEIDA et al., (2001). Esta soroprevalência se justifica em função de que a brucelose canina causada por *B. abortus* é de ocorrência esporádica ocorrendo quando em contato com espécies potencialmente acometidas como a espécie bovina (FORBES, 1990); através de produtos de origem animal contaminado ou da ingestão de restos placentários e de fetos abortados (CARMICHAEL & GREENE, 1998).

Das 550 amostras testadas no presente estudo 6 (1,1%) foram positivas para ambas as *Brucelas*. DIAZ et al., (1968) observaram que as cepas lisas como da *B. abortus* não tem reação cruzada com as amostras rugosas como *B. canis*; assim, os antígenos preparados com a *B. abortus* para diagnóstico da

brucelose bovina, não são capazes de detectar anticorpos anti-*B. canis* (CARMICHAEL, 1990).

As áreas da cidade estudadas com maior número de positivos para *B. canis* e *B. abortus* foram às zonas Norte e Sul, possivelmente por serem locais onde se concentra a maior parte da população de baixa renda, periferia da cidade, que conseqüentemente possuem animais criados semi-domiciliados; A presença de apenas uma parte da população positiva é suficiente para representar um problema de importância epidemiológica, considerando o caráter zoonótico da doença (LEWIS & ANDERSON, 1973).

Quanto às idades estudadas, animais de 1 a 7 anos foram os de maior positividade para *B. canis* e *B. abortus*, mas este resultado é explicado pelo fato desses animais já possuírem maturidade sexual (ALMEIDA et al., 2003); resultado diferente foi encontrado por VASCONCELOS et al., (2008), em seu trabalho, onde a idade não teve significância estatística, estando todas as faixas etária igualmente expostas a infecção. A transmissão ocorre com maior freqüência no período de acasalamento dos cães, mas também pela ingestão ou inalação de aerossóis provenientes de fetos abortados ou secreções de abortamento. O sêmen e a urina são bastante infectantes, pois podem albergar uma grande quantidade de *Brucelas* (CARMICHAEL & JOUBERT, 1988).

Não houve diferença estatisticamente significativa no que se refere ao sexo dos animais, dados similares aos encontrados por MORAES et al., (2002) e VASCONCELOS et al., (2008), para *B. canis* e por FONSECA et al., (1999) para *B. abortus*.

Animais com raça definida foram os de maior positividade para ambas as *Brucelas*; diferentemente de FREDRICKSON & BARTON (1974) que observaram uma alta prevalência em animais sem raça definida e também por ALMEIDA et al., (2003) quando se tratando de soroprevalência em cães domiciliados e semi-domiciliados.

Na avaliação da capacidade reprodutiva, a maior positividade da *B. canis* e *B. abortus* observada foi nos animais castrados, porém estes resultados não são significativos estatisticamente em função da quantidade de amostras avaliadas, (4 animais castrados e 546 inteiros) não permitindo inferências aspecto ressaltado por SASAKI et al., (1993) que consideram que certos estudos podem perder poder estatístico quando uma determinada

variável ocorre com baixa frequência, concordante com os números encontrados nessa situação.

Os animais foram avaliados no que diz respeito ao contato com animais de produção, a maior positividade observada foi em animais que possuíam contato. Contrariamente ao esperado, este resultado, estatisticamente significativo, foi observado para *B. canis*, não sendo significativo para *B. abortus*, aspecto que não possui justificativa se considerarmos rebanhos infectados, uma vez que *B. abortus*, é bactéria oriunda de animais de produção e o contato com bovinos infectados aumenta as chances de uma possível infecção (CARMICHAEL & GREENE, 1998). Justifica-se, no entanto, se o contato realizado ocorreu com animais de produção não infectados.

Animais que tinham acesso à rua, foram os mais acometidos, tanto para *B. canis* como para *B. abortus*; Isso é explicado, pois os cães infectam-se por ingestão de produtos de origem animal *in natura*, contato ou ingestão de tecidos animais, restos placentários ou de fetos abortados contaminados (GREENE, 2006); A doença, também, se espalha com maior frequência no período de acasalamento, devido a grande disseminação venérea da bactéria, desencadeando um grande problema para a população de cães sem domicílio, que se infectam e transmitem a doença durante esta época (CARMICHAEL & JOUBET, 1988).

Animais que possuíam sinais reprodutivos foram significantes estatisticamente, tanto para *B. canis* como para *B. abortus*. LARSSON (1980), em São Paulo, isolou três amostras de *B. canis*, sendo uma amostra de fêmea com histórico de infertilidade, e as outras duas de uma fêmea e de um macho sem sinais clínicos. Os sinais mais comuns na brucelose canina estão associados com o aparelho genital tanto nos machos como nas fêmeas; o principal sinal clínico é aborto em fêmeas no terço final de gestação e nos machos ocorre atrofia testicular, orquite, epididimite e infertilidade (CARMICHAEL & KENNEY, 1970).

Animais que não tinham história de cruzamentos foram os que apresentaram maior percentual de positividade tanto para *B. canis* como para *B. abortus*. Segundo CARMICHAEL & GREENE (1990) a brucelose canina é considerada uma doença da esfera reprodutiva, mas é adquirida também

através de inalação e ingestão de material abortado e produtos de origem animal contaminados.

Em relação ao abortamento, animais que tiveram positividade sorológica para *B. canis* foram os que possuíam história de aborto, dados esses compatíveis com a doença e similares aos obtidos por VASCONCELOS et al (2008) quando estudado o fator de risco nos cães em relação a abortamentos por *B. canis*. Abortamento no terço final de gestação é um evento clássico na brucelose canina (WANKE et al., 2006).

Quanto aos 79 soros de humanos pesquisados na prova da SAR/2-ME para diagnóstico de *B. canis* e a prova do ATA e 2-ME para *B. abortus* todos resultaram negativos para ambas as brucelas, diferentemente da pesquisa realizada por LARSSON (1980) e ZAMORA & ALONSO (1987) que utilizando a prova de SAL com antígeno de *B. canis* cepa RM 6/66 obtiveram, respectivamente 3/79 (3,79%) e 4/330(1,21%) de positividade.

Considerando a *B. abortus* em amostras de soros humanos, FONSECA et al., (1999) obtiveram 64/383 (16,7%) na fixação de complemento, 27/383 (7%) no ELISA, 20/383 (5,2%) SAL, sendo que os trabalhadores de matadouro e veterinários apresentaram maior positividade em relação à população estudada, concluindo que nos seres humanos, a brucelose causada por *Brucella abortus* é de caráter principalmente ocupacional, estando mais sujeitos à infecção as pessoas que trabalham diretamente com os animais infectados (tratadores, veterinários) ou aqueles que trabalham com produtos de origem animal, magarefes, laboratoristas (FONSECA et al., 1999).

Em relação aos fatores associados à transmissão da enfermidade para seres humanos, nas 79 amostras de soro humano contactantes aos cães positivos, observamos que 79/79 (100%) viviam, dormiam, defecavam e urinavam fora da casa e 42 (53,16%) não entravam nem esporadicamente no domicílio, confirmando assim que a falta de contato era grande entre os seres humanos e os animais infectados, o que justifica o fato de apesar dos mesmos constituírem fontes de infecção, podendo eliminar o agente no ambiente pela urina, por ejaculados, por secreções vaginais, por fetos abortados ou pelas

fezes (BAEK et al., 2003) não ter sido observada positividade nos seres humanos contactantes.

Em relação à limpeza de cobertores, casinhas e caminhas 54 (68,35%) não faziam esse tipo de procedimento, pois a maioria desses animais não tinha lugar apropriado para dormir, e não possuíam esses utensílios; A transmissão nos humanos ocorre por contato direto com cães infectados, por inalação e inoculação acidental (KELLEY, 1990), que nesse caso não é relevante.

Quanto ao contato próximo como beijos, abraços, pegar o animal no colo e levarem lambidas 75/79 (94,94%) proprietários responderam que isso acontecia raramente e 73/79 (92,41%) que dar banho nos animais era de ocorrência rara. Os resultados obtidos concordam com FONSECA et al., (1999) que relatam que para prevenção da brucelose em humanos devem ser evitados contatos diretos.

A ausência de positividade em seres humanos se justifica pela falta dos fatores considerados envolvidos na transmissão para seres humanos como pode ser evidenciado de forma contrária no relato de ROXO et al., (1990), em São Paulo, SP, que descreveram um caso de brucelose por *B. canis* em um adolescente de 14 anos que praticava zooerastia onde a suspeita caía sobre uma cadela da raça Doberman, adulta, com quatro anos de idade e positiva à sorologia de *B. canis*.

Das 79 pessoas investigadas 67/79 (84,81%) relatam que o animal infectado não tinha contato com crianças da casa, um ponto importante para a ausência de transmissão da doença, pois o estreito contato entre cães e crianças no ambiente familiar hoje em dia é muito comum (BARG et al., 1978).

## **7 CONCLUSÕES**

A brucelose canina causada pela *B. canis* e *B. abortus* é prevalente na cidade de Marília-SP.

A maior positividade em cães esteve associada às zonas de menor poder aquisitivo.

Foram caracterizados como variáveis associadas a infecção por *B. canis* idade, raça, contato com animais de produção, sinais reprodutivos, cruzamentos e histórico de abortamentos enquanto que para *B. abortus* o cruzamento somente.

A negatividade sorológica nos humanos contactantes pode estar associada à ausência das variáveis relacionadas aos fatores envolvidos na transmissão cão/homem.

## **8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ACHA, P.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**. 3 ed., Washington: Organización Panamericana de La Salud, 2001, 396p.

ALMEIDA, A.C.; MENESES, A.M.; BERNIS, V.M.O.; SOARES, T.M.P.; LOIOLA, C.F.; MARINOVICK, C.; PEREIRA, P.A.S. Soroprevalência de brucelose canina na cidade de Alfenas, MG. Dados preliminares. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.53, n.3 358-360, 2001.

ALMEIDA, A.C.; SANTORELLI, A.; BRUZADELLI, R.M.Z.; OLIVEIRA, M.M.N.F. Soroprevalência da brucelose canina causada por *Brucella canis* e *Brucella abortus* na cidade de Alfenas, MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.56, n.2, p. 275-276, 2004.

BERTHELOT, X.; GARIN-BASTUJI, B. A brucelose no cão. **A Hora Veterinária**, v.16, n.92, p.47-50, 1996.

ALTON, G. G.; JONES, L. M.; PIETZ, D. E. **Las técnicas de laboratorios en la brucelosis**. 2 ed. Genebra: FAO/OMS, 1976.109p.

AZEVEDO, S. S.; VASCOCELLOS, S.A.; ALVES, C.J.; KEID, L.B.; GRASSO, L.M.S.; MASCOLLI, R.; PINHEIRO, S.R. Inquérito sorológico e fatores de risco para a brucelose por *B. canis* em cães do município de Santana de Paranaíba, Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.23, n.4, p.156-160, 2003.

BAEK, B.K.; LIM, C.W.; RAHMAN, M.S.; KIM, C.H.; OLUOCH, A.; KAKOMA, I. *Brucella abortus* infection in indigenous Korean dogs. **Canadian Journal Veterinary Research**. v.64, n.4, p.312-314, 2003.

BARG, L., GODOY, A.M., PERES, J. Pesquisa de aglutininas para *B. abortus* e *B. canis* em soro de escolares no Estado de Santa Catarina. **Arquivo da Escola de Veterinária e Minas Gerais . UFMG**. v.30, p.307-310, 1978.

BISHOP, G.C.; BOSMAN, P.P.; HERR, S.; Bovine brucellosis. In: COETZER, J.A.N.; THOMPSON, G.R.; TUSTIN, R.C. (Eds). **Infections diseases of livestock**. Austin: Texas A & M University Press, College Station, 1994. v. 2, p.1053-1066.

BICKNELL, S.R.; BELL, R.A.; RICHARDS, P.A. *Brucella abortus* in the bitch. **Vet Rec.** v.99, p.85-86, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Defesa Animal. Manual Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose – PNCEBT**, 2006.

BROWN, J.; BLUE, J.L.; WOOLEY, R.E.; DREESEN D.W.; CARMICHAEL, L.E. A serologic survey of a population of Georgia dogs for *Brucella canis* and an evaluation of the slide agglutination test. **Journal American of Veterinary Medical Association**. v.169, n.11, p.1214-1216, 1976.

CARMICHAEL, L.E.; KENNEY, R.M. Canine abortion caused by *Brucella canis*. **Journal American of Veterinary Medical Association**. v.152, n.6, p.605-616, 1968.

CARMICHAEL, L.E. Abortions in 200 Beagles. **Journal American of Veterinary Medical Association**.v.149, n.8, p.1126, 1966.

CARMICHAEL, L.E. *Brucella canis* In: NIELSEN, K.; DUNCAN, J.R. (ed.) **Animal Brucellosis**. Florida: Boca Raton, 1990, 335-350p.

CARMICHAEL, L.E.; GREENE, C.E. **Canine brucellosis**, In: GREENE C.E. Infectious diseases of the dog and cat. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 1998. 248-257p.

CARMICHAEL, L. E. Canine Brucellosis: An annotated review with selected cautionary comments. **Theriogenology**. n.6, n.2-3, p.105-116, 1976.

CARMICHAEL, L. E.; JOUBET, J. C. Transmission of *Brucella canis* by contact exposure. **Cornell Veterinarian**. v.78, n.1, p.63-73, 1988.

CARMICHAEL, L. E.; KENNEY, R. M. Canine brucellosis: The clinical disease, pathogenesis and immune response. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v.156, n.12, p.1726-34, 1970.

CARMICHAEL, L. E.; SHIN, S. J. Canine brucellosis: a diagnostician's dilemma. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**. v.11, n.3, p.161-165, 1996.

CARMICHAEL, L. E.; BRUNER, D. W. Characteristics of a newly recognized species of *Brucella* responsible for infectious canine abortions. **Cornell Veterinarian**. v.58, p. 579- 592, 1968.

CAVALCANTI, L.A.; DASSO, M.G.; OLIVEIRA, F.C.S.; VEIGAS, S.A.R.A.; ALMEIDA, M.G.A.R.; ANUNCIAÇÃO, A.V.M.; ALCANTRA, A.C.; BITTENCOURT, D.V.V.; OLIVEIRA, E.M.D. Pesquisa de anticorpos anti-*brucella canis* em cães provenientes da região metropolitana de Salvador. **Revista Brasileira de Saúde de Produção Animal**. v.7, n.2, p.176-180, 2006.

CORBEL, M.J.; BRINLEY,-MORGAN, W.J. Genus *Brucella* : Gram Negative Aerobic rods and cocci. **Bergey' s Manual**. 1984, p.377-387.

CORTES, V.A.; OLIVEIRA, M.C.G.; ITO, F.H.; VASCONCELLOS, S.A. Reações Sorológicas para *Brucella canis* em cães errantes capturados na proximidade dos parques públicos, reservas florestais e em áreas periféricas do município de São Paulo-Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**. v.25, n.1, p.101-107, 1988.

COSTA, M. Brucelose bovina e eqüina. In: CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MENDEZ, M.D.C.; LEMOS, R.R.A. **Doenças de ruminantes e equinos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 2001. 187-197p.

COUTO DFM, PEDROSO ERP. **Doenças Infecciosas e Parasitárias relacionadas ao trabalho** In: Mendes R (ed) Patologia do trabalho. 2<sup>a</sup> edição, Editora Atheneu, São Paulo, volume 1, capítulo 19, p. 892-893, 2003.

DIAZ, R.; JONES, L.M. & WILSON, J.B. Antigenic Relationship of the Gram negative Organism causing Canine Abortion to Smooth and Rough *Brucella*. **Journal Bacteriology**. v.95, p.618-624, 1968.

DRAGOSAVAC, D.; TASSO, A.P.; CATALAN, M.; LEME JUNIOR, C.A. Revista Brasileira de Terapia Intensiva. v.19, n.3, 2007

FEITOSA, M.H.; BITTAR, C.R.; GOMES, S.P. Brucelose: Levantamento Sorológico no Estado de São Paulo no Período de 1977 a 1987. **Veterinária e Zootecnia de São Paulo**. v.3, p.9-15, 1991.

FERREIRA, T.; GOMES, M.P.J.; RONCONI, M.A.; AQUINO, M.H.C.; TORRES, H.M.; MANDELBAUM, M.A.; FIGUEIREDO, M.J. Brucelose canina: ocorrência em um canil comercial. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.27, p.555-556, 2003.

FLORES-CASTRO, R.; SUAREZ, F.; RAMIREZ-PFEIFFER, C.; CARMICHAEL, L.E. Canine brucellosis: bacteriological and serological investigation of naturally infected dogs in Mexico City. **Journal Clinical Microbiology**. v.6, n.6, p.591-597, 1977.

FONSECA, L. S.; MOLNÁR, E.; MOLNÁR, L.; LIMA, E.S.C. Prevalência de Brucelose em diferentes grupos populacionais da cidade de Belém- PA. **Revista Paranaense de Medicina**. v.13, n.2, p.23-28, 1999.

FORBES, L.B. *B. abortus* infection in 14 farm dogs. **Journal American Veterinary Medical Association**. v.196, p.911-916, 1990.

FREDRICKSON, L.E.; BARTON, C.E. A serologic survey for canine brucellosis in a metropolitan area. **Jornal American Veterinary Medical Association**. v.165, n.11, p.987-989, 1974.

GEORGE, L.W.; CARMICHAEL, L.E. A plate agglutination test for the rapid diagnosis of canine brucellosis. **American Journal Veterinarian Research**. v.34, p. 905-909, 1974.

GERMANO P.M.L., VASCONCELLOS S.A., ISHIZUKA M.M., PASSOS E.C. & ERBOLATO E.B. Prevalência de infecção por *Brucella canis* em cães da cidade de Campinas-SP, Brasil. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo**. v.24, n.1, p.27-34, 1987.

GODOY, A.M.; PERES, J.N.; BARG, L. Isolamento de *Brucella canis* em Minas Gerais. **Arquivo da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**. v.29, n.1, p.35-42, 1976.

GOMES, J.P.; DRIEMEIER, D.; SOARES, H.C.; BASTOS, C.D.; CANTO, S.P.; BRUM, M.; ROSSI, A.C.; CORBELLINI, L.G. *Brucella canis*: Isolamento em um cão com epididimite e orquite. **Clínica Veterinária**. v.4, n.18, p.17-20, 1999.

GÓMEZ, M.C.; NIETO, J.A.; ROSA, C.; GEIJO, P.; ESCRIBANO, M.A.; MUNOZ, A.; LÓPEZ, C. Evaluation of Seven Tests for Diagnosis of Human Brucellosis in an Area Where the Disease Is Endemic. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.15, n. 6, p. 1031–1033, 2008.

GREENE, C.E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 3 ed., Canada: Saunders, 2006, 1387p.

GROSSO-PAULIN, L.M.S. **O combate à brucelose bovina**. 2000. 112p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo.

IRIBARREN, F.; BREGLIA, J.; CASTILLO, M.; ESCOBAR, V.; HOFFMAN, F. Comparación de lâs pruebas de inmunodifusión del gel de agar com antígeno de *Brucella ovis* y de aglutinación en placa con *Brucella canis* M(-) para el diagnóstico de la brucelosis canina. **Veterinaria Argentina**, v.16, n.152, p.146-151, 1999.

JOHNSON, C.A.; WALKER, R.D. Clinical sings and diagnosis of *Brucella canis* infection. **The Compendium on Continuing Education Practicing Veterinarian, Small Animal**. v. 14, n. 6, p.763-772, 1992.

JONES, L.M.; ZANARDI.M.; LEONG, D.; WILSON, J.B.; Taxonomic position in the genus *Brucella* of the causative agente of canine abortion. **Journal of Bacteriology**. v.95, n.2, p.625, 1968.

KEID, L.B.; SOARES, R.M.; MEGID, J.; SALGADO, V.R.; VASCONCELLOS, S.A.; RICHTZENHAIN, L.J. 2006. 135p. **Avaliação de Métodos Diretos e Indiretos de Diagnóstico da Brucelose Canina em Cães Naturalmente Infectados**. 2006. 135p. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal Dissertação (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo. São Paulo.

KEID, L.B. **Diagnóstico da brucelose canina por *Brucella canis*. Correlação entre exames clínicos e laboratoriais: imunodifusão em gel de ágar, imunodifusão em gel de ágar com emprego do 2-Mercaptoetanol, cultivo e reação em cadeia pela polimerase**. 2001. 96p. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo.

KELLEY, W. **Medicina Interna**. 2 ed. Argentina: Editorial Medica Pan-americana AS, 1990.1665-1667p.

LARSSON, M.H.M.A. Pesquisas de Aglutininas Anti *Brucella canis* em Soros Humanos na Cidade de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**. v.14, p.404-407, 1980.

LEWIS, J.R.G.E.; ANDERSON, J.K. The incidence of *Brucella canis* antibodies in sera of military recruits. **American Journal of Public Health**. v.63, n.3, p.204-205, 1973.

MAIA, G.R.; ROSSI, C.R.S.; ABBADIA, F.; VIEIRA, D.K; MORAES, I.A. Prevalência da brucelose canina nas cidades do Rio de Janeiro e Niterói. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.23, n.3, p.425-427, 1999.

MEGID, J.; B RITO, A.F.; MORAES, C.C.G.; FAVA, N.; AGOTTANI, J. Epidemiological assessment of canine brucellosis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**., v.51, n.5, p.439-440, 1999.

MEGID, J.; MORAES, C.C.G.M.; MAROS JR, G.; AGOTTANI, J.V.B. Perfil sorológico, isolamento bacteriano e valores hematológicos e urinários em cães naturalmente infectados com *Brucella canis*. **Ciência Rural, Santa Maria**. v.30, n.3, p.405-409, 2000.

MITKA, S.; ANETAKIS, C.; SOULIOU, E.; DIZA, E.; KANSOUZIDOU, A. Evaluation of Different PCR Assays for Early Detection of Acute and Relapsing Brucellosis in Humans in Comparison with Conventional Methods. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n.4, p. 1211–1218, 2007.

MOLNAR, L.; MOLNAR, E.; LIMA, E.S.C.; DIAS, H.L.T. Avaliação de seis testes sorológicos no diagnóstico da brucelose bubalina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.22, n.2, p.41-44, 2001.

MORENO, S.; ARIZA, J.; ESPINOSA, F.J.; PODZANCZER, D.; MIRO, J.M.; RIBERO, A.; RODRIGUES-ZAPATA, M.; ARRAIZABALAGA, J.; MATEOS, R.; HERRERO, F. Brucelosis in patients infected and with the human immunodeficiency virus. **European Journal Clinical Microbiology and Infectious Diseases**. v.17, n.5, p.319-326, 1998.

MOORE, J.A.; KAKUK, T.J. Male dogs naturally infected with *Brucella canis*. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v.155, n.8, p.1352-1358, 1969.

MORAES, C.C.G.; MEGID, J.; SOUZA, L.C.; CROCCI, A.J. Prevalência da Brucelose canina na Microrregião da Serra de Botucatu, São Paulo, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico de São Paulo**. v.69, n.2, p.7-10, 2002.

MORAES, I.A.; LARANJA, H.F.; VIEIRA, D. K.; LOPES, S.P.; FREAZA, A.; MELO, G.; PENCHEL, V. Identificação de cães potencialmente transmissores de brucelose na Zona Oeste da cidade do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira Científica Veterinária**. v.9, n.3, p.154-157, 2002.

MOSAYEBI, Z.; MOVAHEDIAN, A.H.; GHAYOMI, A.; KAZEMI, B. Brucelose Congênita em um Recem-nascido Pré-termo. **Revista Indian Pediatric**. v. 42, 599-601, 2005.

OLASCOAGA, C.R. Diagnóstico serológico de la brucelosis. **Zoonosis**. v.18, p.107-141, 1976.

OLIVEIRA, P.R.; RIBEIRO, S.C.A.; TUNALA, V. Estudo sobre a brucelose em trabalhadores de um abatedouro de eqüideos. **Revista de Higiene e alimentos**. v.13, p. 66-67, 1999.

PAULIN, L. M. Brucelose. **Revista do Instituto Biológico**, v. 70, n.2, p. 239-249, 2003.

PESSEGUEIRO, P.; BARATA, C.; CORREIA, J. Brucelose-Uma Revisão Sistematizada. **Medicina Interna**. v.10, n.2, p.91-100, 2003.

POESTER, F. P.; BONNETTI, M. V.; CORREA, G. B. Brucelose canina no município de Uruguaiana- RS. In: XII **Congresso Estadual de Medicina Veterinária**. Porto Alegre, RS. Anais... Porto Alegre, Sociedade Veterinária do RS, 1994, p.160.

PRIOR, M.G.1976. Isolation of *Brucella abortus* from two dogs in contact with bovine brucellosis. **Canadian Journal of Comparative Medicine**. v.10, n.1, p.117-118, 1976.

ROXO, E.; PINHEIRO, S.R.; BRANDÃO, M.M.; AGUIAR, J.A.C.; GOUVÊIA, G.; PIORUM, M.L.; LIMA, M.A.B. Brucelose canina: relato de uma possível transmissão de *Brucella canis* ao homem a partir de uma cadela da raça Doberman. **Boletim Informativo Continuada Zoonoses Urbanas**, v.13, n.1, p.47-49, 1990.

SANDOVAL, L.A.; CONRADO RIBEIRO, L.O.; AMARAL, L.B.S. et al.. Incidência da Brucelose canina na cidade de São Paulo. **O Biológico**. v.42, n.32, p.128-132, 1976.

SANTOS-NETO, L.L.; COSTA, G.P.; SIMAAN, C.K.; CORREIA-LIMA, F.A. Abscesso esplênico por *Brucella abortus*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.32, p.53-55, 1999.

SASAKI ,D.M.; PANG L.; MINETTE, H.P.; WAKIDA, C.K.; FUJIMOTO, W.J.; MANEA, S.J.; KUNIOKA, R.; MIDDLETON, C.R. Active surveillance and risk factors for leptospirosis in Hawaii. **American Journal Tropical Medicine Hygiene**. v.48, n.1, p.35-43, 1993.

SMEAK, D.D.; OLMSTEAD, M.L.; HOHN, R.B. *Brucella canis* osteomyelitis in two dogs with total hip replacements. **Jornal of the American Veterinary Medical Associaton**. v.191, n.8, p.986-990, 1987.

SOUZA, L.A.; VIANA, R.C.A.; MICHALICK, M.S.M.; REIS, J.K.P.; LAGE, A.P. Prevalência de infecção por *Brucella canis* em Belo Horizonte, MG. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. v.24, n.3, p.127-131, 2002.

VASCONCELOS, R.T.J.; ALVES, C.J.; CLEMENTINO, I.J.; ARAÚJO NETO, J.O.; ALVES, F.A.L.; BATISTA, C.S.A.; BERNARDI, F.; SOTO, F.R.M.; OLIVEIRA, R.M.; AZEVEDO, S.S. Soroprevalência e fatores de risco associados à infecção por *Brucella canis* em cães da cidade de Campina Grande, estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. V. 9, n. 3, p. 436-442, 2008.

WALD, V. B.; FERNANDES, J. C. T. Sorologia da Brucelose canina no Município de Porto Alegre-RS. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**. Porto Alegre. v. 4-5, p.92-95, 1976-7.

WANKE, M.M.; DELPINO, M.V.; BALDI, P.C. Use of enrofloxacin in the treatment of canine brucellosis in a dog kennel. **Theriogenology**. v.66, n.6-7, p.1573-1578, 2006.

ZAMORA, J.; ALONSO, O.; Determinacion de Anticuerpos Frente a *B. canis* em el Hombre. **Revista de Medicina do Chile**. v.115, n.2, p.126-128, 1987.

## 9 TRABALHO CIENTÍFICO

## **Soroprevalência da brucelose canina para *B. canis* e *B. abortus* e Avaliação Sorológica dos Humanos Contactantes da Cidade de Marília-SP**

### **Seroprevalence of canine brucellosis for *B. canis* and *B. abortus* and serological evaluation of contactants humans in the city of Marília- SP.**

Catia Regina Voss <sup>1</sup> Jane Megid <sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – FMVZ – UNESP – Campus Botucatu, SP, e-mail \* [jane@fmvz.unesp.br](mailto:jane@fmvz.unesp.br)

#### **Resumo**

Nos cães, a brucelose canina tem como principal agente etiológico a *Brucella canis*. Os cães também se apresentam suscetíveis à infecção pela *Brucella abortus* principalmente em ambientes rurais, quando em contato com espécies potencialmente acometidas como a bovina. Essa doença é uma importante zoonose de grande preocupação para as autoridades sanitárias. O objetivo deste trabalho foi avaliar a prevalência da brucelose canina na cidade de Marília e a positividade sorológica em seres humanos contactantes. Foram pesquisados soros de 550 animais da espécie canina, provenientes da zona urbana da cidade de Marília - SP, distribuídos estrategicamente nos setores Norte, Sul, Leste e Oeste. As amostras foram submetidas a soro aglutinação rápida em cartão (SAR) com o antígeno de *B. ovis* para o diagnóstico de *B. canis*, e a prova do antígeno acidificado tamponado (AAT) e 2-Mercaptoetanol (2-ME) para diagnóstico de *B. abortus*. Os soropositivos para as respectivas *Brucelas*, foram identificados e os domicílios visitados para colheita de sangue dos humanos contactantes, os quais foram submetidos às mesmas provas sorológicas.

Das 550 amostras de cães colhidas 38 (6,91%) foram positivos para *B. canis* e 16 (2,91%) foram positivos para *B. abortus*, e desses, seis cães (1,1%) foram positivos para ambas as espécies de *Brucelas*. Das 79 amostras de soro humano, 50 (63,29%) foi realizada pesquisa para *B. canis* e 79 (100%) para *B. abortus*, não se obtendo resultado positivo para qualquer uma das *Brucelas*.

Pode-se constatar que a prevalência da brucelose canina causada por *B. canis* em Marília é de 6,91% e pela *B. abortus* foi de 2,91%. A ausência de positividade em humanos está provavelmente associada com a ausência dos fatores considerados envolvidos na infecção em seres humanos.

**Palavras - chave:** *Brucella canis*, *Brucella abortus*, Epidemiologia, Seres Humanos, Sorologia e Zoonose.

## **Abstract**

In dogs, canine brucellosis has as a major etiologic agent *Brucella canis*. The dogs have also been susceptible to infection by *Brucella abortus* mainly in rural areas, when in contact with potentially affected species such as bovine. This disease is an important zoonosis of great concern to health authorities. The purpose of this study was to assess the prevalence of canine brucellosis in the city of Marília and seropositivity in human contacts. Sera of 550 dogs, from the urban area of Marília - SP, strategically distributed in Sectors North, South, East and West were evaluated. The samples were submitted to rapid serum agglutination test in rapid card (RSAT) using *B. ovis* as antigen for the diagnosis of *B. canis*, and rose bengal test (RBT) and 2-Mercaptoethanol (2-ME) for diagnosis of *B. abortus*. The seropositive for the respective *Brucella* were identified and the homes visited to harvest the blood of human contacts, which were subject to the same serological tests.

Of the 550 samples from dogs, 38 (6.91%) were positive for *B. canis* and 16 (2.91%) were positive for *B. abortus*, and of these, six dogs (1.1%) were positive for both species of *Brucella*. Of the 79 samples of human serum, 50 (63.29%) was evaluated for *B. canis* and 79 (100%) for *B. abortus*, without positive results for any of *Brucella*. The prevalence of canine brucellosis caused by *Brucella canis* in Marília is 6.91% and for *Brucella abortus* 2.91%. The absence of positivity in humans is probably associated with the absence of factors considered involved in infection in humans.

**Keywords:** *Brucella canis*, *Brucella abortus*, Epidemiology, Human, Sorology and Zoonosis.

## **Introdução**

A brucelose canina além do seu caráter zoonótico tem grande importância econômica, especialmente para os criadores de cães, por acometer um grande número de animais (CARMICHAEL, 1976). Os cães também são susceptíveis à infecção pela *B. abortus* principalmente em ambientes rurais, quando em contato com espécies potencialmente acometidas como a bovina (FORBES, 1990); No Brasil a presença de cães infectados por *B. canis* foi confirmada tanto por isolamento bacteriano (GOMES et al. 1999), como por inquérito sorológico (MORAES et al. 2002) e anticorpos contra *B. abortus* em soros de cães foram relatados por FORBES, (1990); AZEVEDO et al., (2003); ALMEIDA et al., (2004); Os dois primeiros casos de infecção humana por *B. canis* foram observados por CARMICHAEL et al., (1968), nos Estados Unidos, tendo como causa acidentes de laboratório após manipulação de antígeno. No Brasil, ROXO et al., (1990), em São Paulo, SP, relataram um caso de brucelose por *B. canis* em um adolescente de 14 anos onde a suspeita caía sobre uma cadela da raça Doberman, adulta, com quatro anos de idade e positiva à sorologia de *B. canis*, com a qual o mesmo praticava zooerastia. O adolescente apresentava febre alta, sudorese profusa, fortes sensação de cansaço, sintomas psicóticos, com quadro depressivo com episódios de histerismo, confusão mental, rigidez na nuca e priapismo.

A transmissão nos humanos ocorre por contato direto com cães infectados, por inalação e inoculação acidental (KELLEY, 1990); A maioria dos quadros de brucelose humana esta associado à infecção por *B. abortus*, manifestando-se, sob a forma de febre, mialgias, cefaléia, dermatite, linfadenopatia e ocasionalmente poliartrites (ACHA & SZYFRES, 2001). Tendo caráter ocupacional (COUTO & PEDROSO, 2003) casos relatados em humanos estão associados ao fator de risco ocupacional para médicos veterinários, tratadores de animais e funcionários de frigoríficos (ACHA & SZYFRES, 2001; MITKA et al., 2007; MOSAYEBI et al., 2005).

## **Material e Métodos**

### **Animais e Humanos**

A amostragem dos cães foi realizada com base de 1% da incidência da doença onde obteve-se 550 soros de cães da zona urbana, a coleta foi realizada aleatoriamente, independente da idade, raça, sexo, sintomatologia clínica; os soros dos humanos contactantes aos cães positivos foi realizada no domicílio onde foi obtido um total de 79 amostras, as colheitas foram realizadas no ano de 2004 no município de Marília – SP

### **Prova da soroaglutinação Rápida SAR/2-ME para diagnóstico de *B. canis***

As 550 amostras de soros caninos e 50 amostras de soro humano foram submetidos à soroaglutinação rápida SAR/2-ME com o kit D-Tec<sup>®</sup>CB produzido pelo laboratório Pitman-Moore nos EUA.

### **Prova do antígeno acidificado tamponado (AAT), e prova do 2-ME para *B. abortus***

Foram realizadas com base na metodologia do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina e Bubalina (PNCEBT) (BRASIL, 2006). Todos os soros caninos reagentes ao AAT foram submetidos ao 2-ME enquanto que para os seres humanos a prova do AAT e 2-M foi realizada em todos os soros. Consideraram-se positivos os soros com títulos maiores ou iguais a 25.

### **Variáveis Associadas aos Fatores de Risco**

Analisaram-se os fatores de risco para *B. canis* e *B. abortus* considerando zonas, idades, sexo, raças capacidade reprodutiva, contato com animais de produção, acesso a rua, sinais reprodutivos, cruzamentos e ocorrência de abortos. As áreas da cidade pesquisadas 140 (25,45%) pertenciam à zona Norte; 136 (24,73%) a zona Sul; 136 (24,73%) a zona Leste; e 138 (25,09%) a zona Oeste; A faixa etária dos animais agrupados de 0 a 1 ano 127 (23,09%), de 1 a 7 anos 334 (60,73%), e acima de 7 anos 89 (16,18%); Das 550 amostras 315 (57,27%) pertenciam a machos e 235 (42,72%) a fêmeas; Houve uma variação de 24 raças e animais sem raça definida sendo que 207

(37,64%) pertenciam a animais com diferentes raças definidas e 343 (62,36%) a animais sem raça definida; A capacidade reprodutiva nesse trabalho considera se as amostras pertenciam a animais castrados ou não. Observou-se que 4 (0,73%) pertenciam a castrados e 546 (99,27%) a inteiros.

Avaliou-se também, se os animais possuíam ou não contato com animais de produção como bovinos, suínos, eqüinos, caprinos, ovinos, aves e outros. Somente 16 (2,91%) das amostras pertenciam a animais que tinham contato e 534 (97,09%) a animais que não possuíam contato; No que se refere o acesso ou não a rua 106 (19,27%) cães tinham acesso à rua e 444 (80,73%) não tinham acesso à rua, e observou-se que 21 (3,82%) tinham histórico de alterações reprodutivas e 529 (96,18%) não apresentavam relatos.

Dos 550 animais estudados, 443 (80,55%) já haviam cruzado e 107 (19,45%) nunca haviam cruzado; Do total de animais avaliados 9 (1,64%) possuíam histórico de aborto e 541 (98,36%) não.

### **Localização e Período de Colheita**

A colheita do material foi realizada no mês de Agosto de 2004 durante a campanha de vacinação anti-rábica na cidade de Marília-SP.

Para a realização da pesquisa, a quantidade de animais foi baseada em 1% da incidência da doença e aplicada ao número de cães vacinados no ano anterior, totalizando 550 soros da espécie canina. Este percentual foi aplicado nas quatro zonas estudadas, separadamente em cada posto de vacinação para que houvesse uma distribuição uniforme. A Zona Sul correspondeu a 15 postos onde foram colhidos soros de 136 animais; a Zona Norte, a 17 postos onde foram colhidos soros de 140 animais; a Zona leste a 16 postos onde foram colhidos 136 soros; e a Zona Oeste a 16 postos onde foram colhidos 138 soros.

O número dos humanos contactantes, só foi possível após os resultados da pesquisa com os cães, as residências foram visitadas para a coleta de sangue dos humanos contactantes e foi aplicado questionário epidemiológico para avaliar os fatores envolvidos na transmissão da brucelose canina.

### **Análise Estatística**

Foram considerados positivos para *B. canis* os soros que reagiram positivamente na SAR/2-ME e para *B. abortus* os que resultaram positivos no 2-ME com títulos maiores ou iguais a 25. Os resultados foram avaliados por meio do teste do Quiquadrado ( $\chi^2$ ) com suas probabilidades e o teste exato de Fisher, utilizando o Microsoft Office Excel 2003 e GraphPadInstat, adotando-se 95% de intervalo de confiança.

## **Resultados**

Das 550 amostras de cães colhidas 38 (6,91%) resultaram positivos para *B. canis* na prova do SAR/2-ME e 140 reagiram na prova do AAT para *B. abortus*. E quando realizada a prova complementar com 2-ME 16 (2,91%) mostraram-se positivas para *B. abortus*. Desses, seis cães (1,1%) foram positivos para ambas as espécies de *Brucelas*.

Foram analisados os fatores de risco para *B. canis* e *B. abortus* considerando zonas, idades, sexo, raças capacidade reprodutiva, contato com animais de produção, acesso a rua, sinais reprodutivos, cruzamentos e ocorrência de abortos (Tabelas 1 e 2).

**TABELA 1** - Resultados do teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e teste exato de Fisher em relação as variáveis analisadas para a determinação dos fatores de risco para *B. canis* em 550 amostras de soro de cães na campanha de vacinação no município de Marília-SP no ano de 2004

Fatores de Risco	Amostras	$\chi^2$	p
	Positivos/ n <sup>o</sup> (%)		
<u>Zonas</u>			
Norte	13/140 (2,36%)	17,82	0,0005 <sup>1</sup>
Sul	18/136 (3,27%)		
Leste	3/136 (0,55%)		
Oeste	4/138 (0,73%)		
<u>Idades</u>			
0-1 ano	6/127 (1,1%)	6,18	0,0455 <sup>1</sup>
1-7 anos	30/334 (5,45%)		
>7 anos	2/89 (0,36%)		
<u>Sexo</u>			
Macho	21/315 (3,82%)	-	*0,8655
Fêmea	17/235 (3,09%)		
<u>Raças</u>			
Com Raça	26/207 (4,74%)	-	*0,0030 <sup>1</sup>
Sem Raça	12/343 (2,18%)		
<u>Reprodução</u>			
Castrado	1/4 (0,18%)	-	*0,2496
Inteiro	37/546 (6,73%)		
<u>Contato com animais de produção</u>			
Sim	5/16 (0,9%)	-	*0,0030 <sup>1</sup>
Não	33/534 (6%)		
<u>Acesso a Rua</u>			
Sim	13/106 (2,36%)	-	*0,0302 <sup>1</sup>
Não	25/444 (4,55%)		
<u>Sinais Reprodutivos</u>			
Sim	20/21 (3,64%)	-	*0,0001 <sup>1</sup>
Não	18/529 (3,27%)		
<u>Cruzamentos</u>			
Sim	19/443 (3,455%)	-	*0,0001 <sup>1</sup>
Não	19/107 (3,455%)		
<u>Aborto</u>			
Sim	8/9 (1,455%)	-	*0,0001 <sup>1</sup>
Não	30/541 (5,455%)		

p= probabilidade    \*= Teste Exato de Fisher    <sup>1</sup>= estatisticamente significativa

**TABELA 2** - Resultados do teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e teste exato de Fisher em relação as variáveis analisadas para a determinação dos fatores de risco para *B. abortus* em 550 amostras de soro de cães no município de Marília-SP no ano de 2004

Fatores de Risco	Amostras	$\chi^2$	p
	Positivos / n <sup>o</sup> (%)		
<u>Zonas</u>			
Norte	7/140 (1,27%)	6,53	0,0887
Sul	5/136 (0,91%)		
Leste	0/136 (0,00%)		
Oeste	4/138 (0,73%)		
<u>Idades</u>			
0-1 ano	1/127 (0,18%)	3,31	0,1916
1-7 anos	13/334 (2,36%)		
>7 anos	2/89 (0,36%)		
<u>Sexo</u>			
Macho	12/315 (2,18%)	-	*0,2006
Fêmea	4/235 (0,73%)		
<u>Raças</u>			
Com Raça	10/207 (1,82%)	-	*0,0630
Sem Raça	6/343 (1,1%)		
<u>Reprodução</u>			
Castrado	1/4 (0,18%)	-	*0,3806
Inteiro	15/546 (2,73%)		
<u>Contato com animais de produção</u>			
Sim	1/16 (0,18%)	-	*0,3806
Não	15/534 (2,73%)		
<u>Acesso a Rua</u>			
Sim	5/106 (0,9%)	-	*0,2083
Não	11/444 (2%)		
<u>Sinais Reprodutivos</u>			
Sim	1/21 (0,18%)	-	*0,4683
Não	15/529 (2,73%)		
<u>Cruzamentos</u>			
Sim	6/443 (1,1%)	-	*0,0002 <sup>1</sup>
Não	10/107 (1,82%)		
<u>Aborto</u>			
Sim	1/9 (0,18%)	-	*0,2349
Não	15/541 (2,73%)		

p= probabilidade      \*= Teste Exato de Fisher      <sup>1</sup>= estatisticamente significativa

**TABELA 3** – Resultado da positividade dos 79 seres humanos contactantes aos cães positivos para *B. canis* e *B. abortus* considerando os fatores envolvidos na transmissão cão/homem no município de Marília-SP, 2004

Fatores Envolvidos na Transmissão <i>B. canis</i> e <i>B. abortus</i>	Amostras
	nº/ Total/ (%)
<u>Local da casa onde o animal dorme</u>	
- Dentro	0/79 (0,00%)
- Fora	79/79 (100%)
<u>Animal entra na casa</u>	
- Sim	37/79 (46,84%)
- Não	42/79 (53,16%)
<u>Local da casa onde o animal fica durante o dia</u>	
- Dentro	0/79 (0,00%)
- Fora	79/79 (100%)
<u>Limpeza cobertores/caminha/casinha</u>	
- Sempre	25/79 (31,65%)
- Raro	54/79 (68,35%)
<u>Local da casa onde o animal defeca e urina</u>	
- Dentro	0/79 (0,00%)
- Fora	79/79 (100%)
<u>Contatos próximos com os animais, beijos, abraços, pegar no colo e levarem lambidas</u>	
- Sempre	4/79 ( 5,06%)
- Raro	75/79 (94,94%)
<u>Crianças na casa</u>	
- Presença	12/79 (5,19%)
- Ausência	67/79 (84,81%)
<u>Banhos</u>	
- Sempre	6/79 (7,52%)
- Raro	73/79 (92,41%)
<u>Contato com abortos e secreções</u>	
- Sim	6/79 (7,52%)
- Não	73/79 (92,41%)

## DISCUSSÃO

No presente trabalho das 550 amostras de cães 38 (6,91%) foram positivas a SAR/2-ME, resultado esse próximo ao encontrado por GERMANO et al., (1987).

Para *B. abortus* foram observados 16(2,91%) animais positivos; resultados esses similares aos encontrados por AZEVEDO et al., (2003) e MOLNAR et al., (2001).

As áreas da cidade com maior número de positivos para *B. canis* e *B. abortus* foram às zonas Norte e Sul, possivelmente por serem locais onde se concentra a maior parte da população de baixa renda, periferia da cidade. A presença da enfermidade, mesmo que em apenas uma parte da população positiva é considerada importante devido ao caráter zoonótico da doença (LEWIS & ANDERSON, 1973).

Animais de 1 a 7 anos foram os de maior positividade para *B. canis* e *B. abortus*, provavelmente por já possuírem maturidade sexual nessa idade (ALMEIDA et al., 2003) contrariamente aos resultados encontrados por VASCONCELOS et al (2008) que não observaram diferença na faixa etária dos animais positivos.

Animais com raça definida foram os de maior positividade para ambas as brucelas; diferentemente de FREDRICKSON & BARTON (1974) e por ALMEIDA et al., (2003) quando se tratando de soroprevalência em cães domiciliados e semi-domiciliados.

Animais que tinham acesso à rua, foram os mais acometidos, tanto para *B. canis* como para *B. abortus*; Isso é explicado, pois os cães infectam-se por ingestão de produtos de origem animal *in natura*, contato ou ingestão de tecidos animais, restos placentários ou de fetos abortados contaminados (CARMICHAEL, 1990) e através de acasalamento (CARMICHAEL & JOUBET, 1988).

Positividade foi verificada também em cães com sinais reprodutivos tanto para *B. canis* como para *B. abortus*. O principal sinal clínico é aborto em fêmeas no terço final de gestação e nos machos ocorre atrofia testicular, orquite, epididimite e infertilidade (CARMICHAEL & KENNEY, 1970).

Animais que não tinham história de cruzamentos foram os que apresentaram maior positividade tanto para *B. canis* como para *B. abortus*. Segundo

CARMICHAEL & GREENE (1990) a brucelose canina é considerada uma doença da esfera reprodutiva.

Em relação ao abortamento, animais que tiveram maior positividade para *B. canis* foram os que possuíam história de aborto, dados esses compatíveis com a doença e similar aos obtidos por VASCONCELOS et al (2008) quando estudando os fatores de risco para *B. canis* o abortamento no terço final de gestação é um evento clássico na brucelose canina (CARMICHAEL, 1990).

Quanto aos 79 soros dos seres humanos pesquisados na prova da SAR/2-ME para diagnóstico de *B. canis* e a prova do AAT e 2-ME para *B. abortus*, todos foram negativos para ambas as brucelas, diferentemente da pesquisa realizada por LARSSON, (1980) e ZAMORA & ALONSO, (1987) quando pesquisaram *B. canis*. Em relação a *B. abortus* por FONSECA et al., (1999) os quais encontraram positividade sorológica no grupo de humanos estudados.

Os fatores associados na transmissão da enfermidade para seres humanos, nas 79 amostras de soro humano contactantes aos cães positivos, observamos que 79/79 (100%) viviam, dormiam, defecavam e urinavam fora da casa e 42 (53,16%) não entravam nem esporadicamente no domicílio, confirmando assim que a falta de contato era grande entre os seres humanos e os animais infectados, o que justifica o fato dos mesmos constituírem fontes de infecção (BAEK et al., 2003).

Limpeza de cobertores, casinhas e caminhas 54(68,35%) relataram que não faziam esse tipo de procedimento, pois a maioria desses animais não tinha lugar apropriado para dormir, e não possuíam esses utensílios; A transmissão nos humanos ocorre por contato direto com cães infectados, por inalação e inoculação acidental (KELLEY, 1990), que nesse caso não é relevante.

Quanto ao contato próximo como beijos, abraços, pegar o animal no colo e levarem lambidas 75/79 (94,94%) proprietários responderam que isso acontecia raramente; e 73/79 (92,41%) que dar banho nos animais era de ocorrência rara. Os resultados obtidos concordaram com FONSECA et al., (1999) que relatam que para prevenção da brucelose em humanos devem ser evitados contatos diretos.

A ausência de positividade em seres humanos se justifica pela falta de dos fatores considerados envolvidos na transmissão para seres humanos como

pode ser evidenciado por ROXO et al., (1990) em relato de caso sobre zooerastia, onde neste caso haviam contato direto.

Das 79 pessoas investigadas 67/79 (84,81%) relatam que o animal infectado não tinha contato com crianças da casa, um ponto importante para a ausência de transmissão da doença, pois o estreito contato entre cães e crianças no ambiente familiar hoje em dia é muito comum (BARG et al., 1978). Ressalta-se a importância do tipo de contato entre seres humanos e animais na soropositividade da enfermidade em humano, ficando evidente neste trabalho que embora ambas brucelas sejam prevalentes na cidade de Marília, estando inclusive associada a quadro clínico da enfermidade nos cães, não se observou positividade nos humanos contactantes o que se justifica pela falta de contato estreito entre ambas as espécies.

### **Referências Bibliográficas**

1. ALMEIDA AC, SANTORELLI A, BRUZADELLI RMZ, OLIVEIRA MMNF. Soroprevalência da brucelose canina causada por *Brucella canis* e *Brucella abortus* na cidade de Alfenas, MG. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2004;56 (2):275-276.
2. AZEVEDO SS, VASCOCELLOS AS, ALVES CJ, KEID LB, GRASSO LMS, MASCOLLI R, PINHEIRO SR. Inquérito sorológico e fatores de risco para a brucelose por *B. canis* em cães do município de Santana de Paranaíba, Estado de São Paulo. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2003; 23 (4):156-160..
3. BAEK BK, LIM CW, RAHMAN MS, KIM CH, OLUOCH A, KAKOMA I. *Brucella abortus* infection in indigenous Korean dogs. Canadian Journal Veterinary Research. 2003; 64 (4):312-314.
4. BARG L, GODOY AM, PERES J. Pesquisa de aglutininas para *B. abortus* e *B. canis* em soro de escolares no Estado de Santa Catarina. Arquivo da Escola de Veterinária e Minas Gerais. UFMG. 1978; 30: 307-310.

5. BISHOP GC, BOSMAN PP, HERR S. Bovine brucellosis. In: COETZER, J.A.N.; THOMPSON, G.R.; TUSTIN, R.C. (Eds). Infections diseases of livestock. Austin: Texas A & M University Press, College Station, 1994; (2):1053-1066.
6. CARMICHAEL LE, GREENE CE. Canine brucellosis, In: GREENE C.E. Infectious diseases of the dog and cat. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 1998. 248-257p.
7. CARMICHAEL LE. Canine Brucellosis: An annotated review with selected cautionary comments. Theriogenology. 1976;6 (2-3):105-116.
8. CARMICHAEL LE, KENNEY RM. Canine brucellosis: The clinical disease, pathogenesis and immune response. Journal of American Veterinary Medical Association. 1970;156 (12):1726-1734.
9. CORTES VA, OLIVEIRA MCG, ITO FH, VASCONCELLOS SA. Reações Sorológicas para *Brucella canis* em cães errantes capturados na proximidade dos parques públicos, reservas florestais e em áreas periféricas do município de São Paulo-Brasil. Revista Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. 1988; 25(1):101-107.
10. CUNHA M, MIGUEL N, MANSO JA. Brucelose em Pediatria. Revista Portuguesa de Clínica Geral. 2003; 19:84-88.
11. FERREIRA T, GOMES MPJ, RONCONI MA, AQUINO MHC, TORRES HM, MANDELBAUM MA, et al. Brucelose canina: ocorrência em um canil comercial. Revista Brasileira de Reprodução Animal. 2003; 27:555-556.

12. FONSECA LS, MOLNÁR E, MOLNÁR L, LIMA ESC. Prevalência de Brucelose em diferentes grupos populacionais da cidade de Belém- PA. Revista Paranaense de Medicina. 1999;13 (2):23-28.
13. FORBES LB. *B. abortus* infection in 14 farm dogs. Journal American Veterinary Medical Association. 1990; 196:911-916.
14. FREDRICKSON LE, BARTON CE. A serologic survey for canine brucellosis in a metropolitan area. Journal American Veterinary Medical Association. 1974; 165 (11):987-989.
15. GERMANO PML, VASCONCELLOS AS, ISHIZUKA MM, PASSOS EC, ERBOLATO EB. Prevalência de infecção por *Brucella canis* em cães da cidade de Campinas-SP, Brasil. Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. 1987; 24 (1):27-34.
16. GOMES JP, DRIEMEIER D, SOARES HC, BASTOS CD, CANTO SP, BRUM M., et al. *Brucella canis*: Isolamento em um cão com epididimite e orquite. Clínica Veterinária. 1999;4 (18):17-20.
17. GREENE CE. Infectious Diseases of the Dog and Cat. 3 ed., Canada: Saunders, 2006:1387p.
18. LARSSON MHMA. Pesquisas de Aglutininas Anti *Brucella canis* em Soros Humanos na Cidade de São Paulo, Brasil. Revista de Saúde Pública. 1980; 14:404-407.
19. LEWIS JRGE, ANDERSON JK. The incidence of *Brucella canis* antibodies in sera of military recruits. American Journal of Public Health. 1973; 63 (3):204-205.
20. MAIA GR, ROSSI CRSA, BBADIA F, VIEIRA DK, MORAES IA. Prevalência da brucelose canina nas cidades do Rio de Janeiro e Niterói. Revista Brasileira de Reprodução Animal. 1999;23 (3):425-427.

21. MOLNAR L, MOLNAR E, LIMA ESC, DIAS HLT. Avaliação de seis testes sorológicos no diagnóstico da brucelose bubalina. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2001; 22(2):41-44.
22. MORAES CCG, MEGID J, SOUZA LC, CROCCI AJ. Prevalência da Brucelose canina na Microrregião da Serra de Botucatu, São Paulo, Brasil. Arquivo do Instituto Biológico de São Paulo. 2002; 69 (2):7-10.
23. ROXO E, PINHEIRO SR, BRANDÃO MM, AGUIAR JAC, GOUVÊIA G, PIORUM ML., et al. Brucelose canina: relato de uma possível transmissão de *Brucella canis* ao homem a partir de uma cadela da raça Doberman. Boletim Informativo Continuada Zoonoses Urbanas. 1990; 13 (1):47-49.
24. SASAKI DM, PANG L, MINETTE HP, WAKIDA CK, FUJIMOTO WJ MANEA SJ., et al . Active surveillance and risk factors for leptospirosis in Hawaii. American Journal Tropical Medicine Hygiene. 1993; 48 (1):35-43.
25. VASCONCELOS RTJ, ALVES CJ, CLEMENTINO IJ, ARAÚJO NETO JO, ALVES FAL, BATISTA CSA., et al. Soroprevalência e fatores de risco associados à infecção por *Brucella canis* em cães da cidade de Campina Grande, estado da Paraíba. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. 2008; 9 (3): 436-442.

## ANEXO 1

### NORMAS DA REVISTA DE SAÚDE PÚBLICA DA USP

#### Artigos

Incluem estudos observacionais, estudos experimentais ou quase experimentais, avaliação de programas, análises de custo-efetividade, análises de decisão e estudos sobre avaliação de desempenho de testes diagnósticos para triagem populacional.

Cada artigo deve conter objetivo e hipóteses claras, desenho e métodos utilizados, resultados, discussão e conclusões.

Incluem também ensaios teóricos (críticas e formulação de conhecimentos teóricos relevantes) e artigos dedicados à apresentação e discussão de aspectos metodológicos e técnicas utilizadas na pesquisa em saúde pública. Neste caso, o texto deve ser organizado em tópicos para guiar os leitores quanto aos elementos essenciais do argumento desenvolvido.

Recomenda-se ao autor que antes

de submeter seu artigo utilize o "checklist" correspondente:

CONSORT checklist e fluxograma para ensaios controlados e randomizados

QUOROM checklist e fluxograma para revisões sistemáticas

MOOSE checklist e fluxograma para meta-análise

STARD checklist e fluxograma para estudos de acurácia diagnóstica

STROBE para estudos observacionais Health economics checklist

#### Informações complementares:

Devem ter até 3.500 palavras, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.

As tabelas e figuras, limitadas a 5 no conjunto, devem incluir apenas

os dados imprescindíveis, evitando-se tabelas muito longas. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas.

As referências bibliográficas, limitadas a cerca de 25, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.

Caso não possam ser substituídas por outras, não farão parte da lista de referências bibliográficas, devendo ser indicadas nos rodapés das páginas onde estão citadas.

Os resumos devem ser apresentados no *formato estruturado*, com até 300 palavras, contendo os itens: Objetivo, Métodos, Resultados e Conclusões. Excetuam-se os ensaios teóricos e os artigos sobre metodologia e técnicas usadas em pesquisas, cujos resumos são no formato narrativo, que, neste caso, terão limite de 150 palavras. A estrutura

dos artigos originais de pesquisa é a convencional: Introdução, Métodos, Resultados e Discussão, embora outros formatos possam ser aceitos. A Introdução deve ser curta, definindo o problema estudado, sintetizando sua importância e destacando as lacunas do conhecimento que serão abordadas no artigo. As fontes de dados, a população estudada, amostragem, critérios de seleção, procedimentos analíticos, dentre outros, devem ser descritos de forma compreensiva e completa, mas sem prolixidade.

A seção de Resultados deve se limitar a descrever os resultados encontrados sem incluir interpretações/comparações. O texto deve complementar e não repetir o que está descrito em tabelas e figuras. A Discussão deve incluir a apreciação dos autores sobre as limitações do estudo, a comparação dos achados com a literatura, a interpretação dos autores sobre os resultados obtidos e sobre suas principais implicações e a eventual indicação de caminhos para novas pesquisas.

Trabalhos de pesquisa qualitativa podem juntar as partes Resultados

e Discussão, ou mesmo ter diferenças na nomeação das partes, mas respeitando a lógica da estrutura de artigos científicos.

**Comunicações Breves** – São relatos curtos de achados que apresentam interesse para a saúde pública, mas que não comportam uma análise mais abrangente e uma discussão de maior fôlego.  
Informações complementares

Devem ter até *1.500 palavras* (excluindo resumos, tabelas, figuras e referências) *uma tabela ou figura* e até 5 referências.

Sua apresentação deve acompanhar as mesmas normas exigidas para artigos originais, exceto quanto ao resumo, que não deve ser estruturado e deve ter até *100 palavras*.

## **ARTIGOS DE REVISÃO**

**Revisão sistemática e meta-análise** –

Por meio da síntese de resultados de estudos originais, quantitativos ou qualitativos, objetiva responder à pergunta específica e de relevância para a saúde pública. Descreve com

pormenores o processo de busca dos estudos originais, os critérios utilizados para seleção daqueles que foram incluídos na revisão e os procedimentos empregados na síntese dos resultados obtidos pelos estudos revisados (que poderão ou não ser procedimentos de **meta-análise**).

**Revisão narrativa/crítica** - A revisão narrativa ou revisão crítica apresenta caráter descritivo-discursivo, dedicando-se à apresentação compreensiva e à discussão de temas de interesse científico no campo da Saúde Pública. Deve apresentar formulação clara de um objeto científico de interesse, argumentação lógica, crítica teórico-metodológica dos trabalhos consultados e síntese conclusiva. Deve ser elaborada por pesquisadores com experiência no campo em questão ou por especialistas de reconhecido saber.

Informações complementares:

Sua extensão é de até *4.000 palavras*.

O formato dos resumos, a critério dos autores, será narrativo, com até

150 palavras. Ou estruturado, com até 300 palavras.

Não há limite de referências.

### **COMENTÁRIOS**

Visam a estimular a discussão, introduzir o debate e "oxigenar" controvérsias sobre aspectos relevantes da saúde pública. O texto deve ser organizado em tópicos ou subitens destacando na Introdução o assunto e sua importância. As referências citadas devem dar sustentação aos principais aspectos abordados no artigo.

#### Informações complementares:

Sua extensão é de até 2.000 palavras, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.

O formato do resumo é o narrativo, com até 150 palavras.

As referências bibliográficas estão limitadas a cerca de 25

**Publicam-se também Cartas Ao Editor com até 600 palavras e 5 referências.**

#### **Autoria**

O conceito de autoria está baseado na contribuição substancial de cada

uma das pessoas listadas como autores, no que se refere sobretudo à concepção do projeto de pesquisa, análise e interpretação dos dados, redação e revisão crítica. A contribuição de cada um dos autores deve ser explicitada em declaração para esta finalidade (ver modelo). Não se justifica a inclusão de nome de autores cuja contribuição não se enquadre nos critérios acima. A indicação dos nomes dos autores logo abaixo do título do artigo é *limitada a 12; acima deste número, os autores são listados no rodapé da página.*

Os manuscritos publicados são de propriedade da Revista, vedada tanto a reprodução, mesmo que parcial, em outros periódicos impressos. Resumos ou resenhas de artigos publicados poderão ser divulgados em outros periódicos com a indicação de *links* para o texto completo, sob consulta à Editoria da RSP. A tradução para outro idioma, em periódicos estrangeiros, em ambos os formatos, impresso ou eletrônico, somente poderá ser publicada com autorização do Editor Científico e desde que sejam fornecidos os respectivos créditos

## **Processo de julgamento dos manuscritos**

Os manuscritos submetidos que atenderem às "instruções aos autores" e que se coadunem com a sua política editorial são encaminhados para avaliação.

Para ser publicado, o manuscrito deve ser aprovado nas três seguintes fases:

**Pré-análise:** a avaliação é feita pelos Editores Científicos com base na originalidade, pertinência, qualidade acadêmica e relevância do manuscrito para a saúde pública.

**Avaliação por pares externos:** os manuscritos selecionados na pré-análise são submetidos à avaliação de especialistas na temática abordada. Os pareceres são analisados pelos editores, que propõem ao Editor Científico a aprovação ou não do manuscrito.

**Redação/Estilo:** A leitura técnica dos textos e a padronização ao estilo da Revista finalizam o processo de avaliação. O anonimato é garantido durante todo o processo de julgamento.

Manuscritos recusados, mas com a possibilidade de reformulação, poderão retornar como novo trabalho, iniciando outro processo de julgamento.

## **Preparo dos manuscritos**

Idiomas

Dados de identificação

Resumos

Descritores

Agradecimentos

Referências

Tabelas

Figuras

Os manuscritos devem ser preparados de acordo com as "Instruções aos Autores". Devem ser digitados em extensão .doc, .txt ou .rtf, com letras arial, corpo 12, página em tamanho A-4, incluindo resumos, agradecimentos, referências e tabelas. Todas as páginas devem ser numeradas.

Deve-se evitar no texto o uso indiscriminado de siglas, excetuando as já conhecidas.

Os **critérios éticos da pesquisa** devem ser respeitados. Para tanto os autores devem explicitar em

Métodos que a pesquisa foi conduzida dentro dos padrões exigidos pela Declaração de Helsinque e aprovada pela comissão de ética da instituição onde a pesquisa foi realizada.

### **Idioma**

Aceitam-se manuscritos nos idiomas português, espanhol e inglês. Para aqueles submetidos em português oferece-se a opção de tradução do texto completo para o inglês e a publicação adicional da versão em inglês em meio eletrônico. Independentemente do idioma empregado, todos manuscritos devem apresentar dois resumos, sendo um em português e outro em inglês. Quando o manuscrito for escrito em espanhol, deve ser acrescentado um terceiro resumo nesse idioma.

### **Dados de identificação**

**a)** Título do artigo - deve ser conciso e completo, limitando-se a 93 caracteres, incluindo espaços. Deve ser apresentada a versão do título em **inglês**.

**b)** Título resumido - com até 45 caracteres, para fins de legenda nas páginas impressas.

**c)** Nome e sobrenome de cada autor, seguindo formato pelo qual é indexado.

**d)** Instituição a que cada autor está afiliado, acompanhado do respectivo endereço (uma instituição por autor).

**e)** Nome e endereço do autor responsável para troca de correspondência.

**f)** Se foi subvencionado, indicar o tipo de auxílio, o nome da agência financiadora e o respectivo número do processo.

**g)** Se foi baseado em tese, indicar o nome do autor, título, ano e instituição onde foi apresentada.

**h)** Se foi apresentado em reunião científica, indicar o nome do evento, local e data da realização.

**Descritores** - Devem ser indicados entre 3 e 10, extraídos do vocabulário "Descritores em Ciências da Saúde" (DeCS), quando acompanharem os resumos em português, e do Medical Subject Headings (MeSH), para os resumos

em inglês. Se não forem encontrados descritores disponíveis para cobrirem a temática do manuscrito, poderão ser indicados termos ou expressões de uso conhecido.

**Agradecimentos** Devem ser mencionados nomes de pessoas que prestaram colaboração intelectual ao trabalho, desde que não preencham os requisitos para participar da autoria. Deve haver permissão expressa dos nomeados (ver documento Responsabilidade pelos Agradecimentos). Também podem constar desta parte agradecimentos a instituições quanto ao apoio financeiro ou logístico.

**Referências** As referências devem ser ordenadas alfabeticamente, numeradas e normalizadas de acordo com o estilo Vancouver. Os títulos de periódicos devem ser referidos de forma abreviada, de acordo com o Index Medicus, e grafados no formato itálico. No caso de publicações com até 6 autores, citam-se todos; acima de 6, citam-se os seis primeiros, seguidos da expressão latina “et al”.

### **Exemplos:**

Zinn-Souza LC, Nagai R, Teixeira LR, Latorre MRDO, Roberts R, Cooper SP, et al .Fatores associados a sintomas depressivos em estudantes do ensino médio de São Paulo, Brasil. Rev Saude Publica.2008;42(1):34-40.

Para outros exemplos recomendamos consultar o documento "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Medical Publication" (<http://www.icmje.org>).

Comunicação pessoal, não é considerada referência bibliográfica. Quando essencial, pode ser citada no texto, explicitando em rodapé os dados necessários. Devem ser evitadas citações de documentos não indexados na literatura científica mundial e de difícil acesso aos leitores, em geral de divulgação circunscrita a uma instituição ou a um evento; quando relevantes, devem figurar no rodapé das páginas que as citam.

Da mesma forma, informações citadas no texto, extraídas de documentos eletrônicos, não mantidas permanentemente em sites, não devem fazer parte da lista

de referências, mas podem ser citadas no rodapé das páginas que as citam.

## **Suplementos**

Temas relevantes em saúde pública podem ser temas de suplementos. A Revista publica até dois suplementos por volume/ano, sob demanda.

Os suplementos são coordenados por, no mínimo, três editores. Um é obrigatoriamente da RSP, escolhido pelo Editor Científico. Dois outros editores-convidados podem ser sugeridos pelo proponente do suplemento.

Todos os artigos submetidos para publicação no suplemento serão avaliados por revisores externos, indicados pelos editores do suplemento. A decisão final sobre a publicação de cada artigo será tomada pelo Editor do suplemento que representar a RSP.

O suplemento poderá ser composto por artigos originais (incluindo ensaios teóricos), artigos de revisão, comunicações breves ou artigos no formato de comentários. Os autores devem apresentar seus trabalhos de acordo com as

instruções aos autores disponíveis no site da RSP.

Para serem indexados, tanto os autores dos artigos do suplemento, quanto seus editores devem esclarecer os possíveis conflitos de interesses envolvidos em sua publicação. As informações sobre conflitos de interesses que envolvem autores, editores e órgãos financiadores deverão constar em cada artigo e na contra-capas da Revista.

## **Conflito de interesses**

A confiabilidade pública no processo de revisão por pares e a credibilidade de artigos publicados dependem em parte de como os conflitos de interesses são administrados durante a redação, revisão por pares e tomada de decisões pelos editores.

Conflitos de interesses podem surgir quando autores, revisores ou editores possuem interesses que, aparentes ou não, podem influenciar a elaboração ou avaliação de manuscritos. O conflito de interesses pode ser de natureza pessoal, comercial, política, acadêmica ou financeira.

Quando os autores submetem um manuscrito, eles são responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros ou de outra natureza que possam ter influenciado seu trabalho. Os autores devem reconhecer no manuscrito todo o apoio financeiro para o trabalho e outras conexões financeiras ou pessoais com relação à pesquisa. O relator deve revelar aos editores quaisquer conflitos de interesse que poderiam influir em sua opinião sobre o manuscrito, e, quando couber, deve declarar-se não qualificado para revisá-lo.

Se os autores não tiverem certos do que pode constituir um potencial conflito de interesses, devem contatar a secretaria editorial da Revista.

### **Documentos**

Cada autor deve ler, assinar e anexar os documentos:

Declaração de Responsabilidade e Transferência de Direitos Autorais (enviar este somente após a aprovação).

Apenas a Declaração de responsabilidade pelos Agradecimentos deve ser assinada somente pelo primeiro autor (correspondente).

### **Documentos que devem ser anexados ao manuscrito no momento da submissão:**

#### **1. Declaração de responsabilidade**

#### **2. Agradecimentos**

**Documento que deve ser enviado à Secretaria da RSP somente na ocasião da aprovação do manuscrito para publicação:**

#### **3. Transferência de direitos autorais**

### **Documentos**

#### **1. Declaração de Responsabilidade**

Segundo o critério de autoria do International Committee of Medical Journal Editors, autores devem contemplar todas as seguintes condições: (1) Contribuí

substancialmente para a concepção e planejamento, ou análise e interpretação dos dados; (2) Contribuí significativamente na elaboração do rascunho ou na revisão crítica do conteúdo; e (3) Participei da aprovação da versão final do manuscrito.

No caso de grupo grande ou multicêntrico ter desenvolvido o trabalho, o grupo deve identificar os indivíduos que aceitam a responsabilidade direta pelo manuscrito. Esses indivíduos devem contemplar totalmente os critérios para autoria definidos acima e os editores solicitarão a eles as declarações exigidas na submissão de manuscritos. O autor correspondente deve indicar claramente a forma de citação preferida para o nome do grupo e identificar seus membros. Normalmente serão listados em rodapé na folha de rosto do artigo.

Aquisição de financiamento, coleta de dados, ou supervisão geral de grupos de pesquisa, somente, não justificam autoria.

**Todas as pessoas relacionadas como autores devem assinar declaração de responsabilidade.**

### **3. Declaração de Responsabilidade pelos Agradecimentos**

Os autores devem obter permissão por escrito de todos os indivíduos mencionados nos Agradecimentos, uma vez que o leitor pode inferir seu endosso em dados e conclusões. O autor responsável pela correspondência deve assinar uma declaração conforme.

### **4. Transferência de Direitos Autorais**

Enviar o documento assinado por cada autor na ocasião da aprovação do manuscrito.

A RSP não autoriza republicação de seus artigos, exceto em casos especiais. Resumos podem ser republicados em outros veículos impressos, desde que os créditos sejam devidamente explicitados, constando a referência ao artigo original. Todas as solicitações acima, assim como pedidos de inclusão de links para artigos da RSP na SciELO em sites, devem ser encaminhados à Editoria Científica da Revista de Saúde Pública.

## **ANEXO 2**

### **QUESTIONÁRIO APLICADO AO PROPRIETÁRIO NA CAMPANHA DE VACINAÇÃO ANTI-RÁBICA**

1. Nome:
2. Endereço:
3. Local: Zona rural ou Zona urbana
4. Telefone:
5. Município:
6. Quantas pessoas residem na casa e quantas são crianças?
7. Nome do animal:
8. Espécie:
9. Idade:
10. Sexo:
11. Raça:
12. Alimentação:
13. O animal é inteiro ou castrado? Se castrado, há quanto tempo?
14. Existe contactantes domésticos, quais?
15. Existe contato com animais de produção?
16. O animal já ficou doente?
17. Quais sintomas? Especificar.
18. O animal já passou por consulta com um Médico Veterinário?  
Quantas?
19. O animal é vacinado contra Raiva todo ano? Quando foi a ultima dose?
20. O animal é vacinado contra outras doenças com vacina V8, V10?  
Quando e quantas doses?
21. Tem acesso a rua? O animal já cruzou? Quantas vezes?
22. Sinais Reprodutivos?
23. Aborto?

## **ANEXO 3**

### **QUESTIONÁRIO APLICADO AO PROPRIETÁRIO NO DOMICILIO DO CÃO POSITIVO**

1. Seu cão fica em que local da casa?
2. O animal tem acesso a rua?
3. Com que frequência seu animal entra em casa?
4. Onde ele dorme?
5. Com qual frequência você lava caminha, cobertor ou casinha que seu animal dorme?
6. Seu animal costuma defecar e urinar em qual local da casa?
7. Qual a frequência com que você limpa o local onde ele urina e defeca?
8. Que tipo de produto de limpeza você utiliza para fazer essa limpeza?
9. Você pega frequentemente seu animal no colo ou faz carinho como beijar ou deixar ele te lambar, lambar sua boca ou de alguém da família?
10. Tem crianças na casa, qual o contato dessas com o cão?
11. Com qual frequência você dá banho no seu animal?
12. Já teve contato com restos de placentas das (fêmeas) ou com alguma secreção do aparelho reprodutor do seu animal?
13. Alguém da casa esta doente ou esteve doente recentemente? Quais os sintomas?

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)