

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**Glaucenyra Cecília Pinheiro da Silva**

**SOROPREVALÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-LEPTOSPIRA  
E REAÇÃO ANTI-BRUCELLA EM CÃES NO MUNICÍPIO DE  
CUIABÁ, MATO GROSSO, BRASIL**

**CUIABA-MT**

**2010**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**SOROPREVALÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-LEPTOSPIRA  
E REAÇÃO ANTI-BRUCCELLA EM CÃES NO MUNICÍPIO DE  
CUIABÁ, MATO GROSSO, BRASIL**

**Glaucenyra Cecília Pinheiro da Silva**

**Orientadora: Profa Dra Darci Lara Perecin Nociti**

**Co-Orientadora: Profa Dra Valeria Regia Franco Sousa**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração: Sanidade Animal, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso para a obtenção do título de Mestre em ciências Veterinárias

**CUIABA-MT**

**2010**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ANIMAL



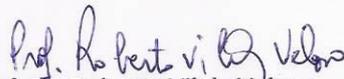
### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 23108.040913/08-2, sobre "Soro prevalência de aglutininas anti-leptospira e reação anti-brucella em cães no município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil", sob a responsabilidade de Dr. DARCI LARA PERCIN NOCITI/GLAUCENYRA CECÍLIA PINHEIRO DA SILVA, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA)-UFMT em reunião ordinária de 11 de março de 2009.

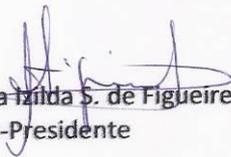
### CERTIFICATE

We certify that the protocol Nº 23108.040913/08-2, entitled "Seroprevalence of anti-Leptospira spp Agglutininas reaction and anti-Brucella spp in dogs in the city of Cuiabá, Mato Grosso, Brazil", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (Federal University of Mato Grosso – UFMT) on March 11, 2009.

Cuiabá-MT, 12 de março de 2009.

  
Prof. Dr. Roberto Vilela Veloso

Presidente

  
Profª M.Sc. Sandra Izilda S. de Figueiredo

Vice-Presidente

Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT  
Cidade Universitária – Av. Fernando Correa da Costa, s/nº  
Biotério Central – CEP 78060-900 – CUIABÁ-MT, Brasil.

Telefone: (65) 3615 8890  
Fax.: (65) 3615 8811  
E-mail: cepa@ufmt.br

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome do autor: **GLAUCENYRA CECÍLIA PINHEIRO DA SILVA**

Título: **SOROPREVALÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-LEPTOSPIRA E REAÇÃO ANTI- BRUCELLA EM CÃES NO MUNICÍPIO DE CUIABÁ, MATO GROSSO, BRASIL.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração: Sanidade Animal, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso para obtenção do título de mestre em Ciências Veterinárias.

Data: 31/05/2010

### Banca Examinadora

Prof.<sup>(a)</sup> Dr.<sup>(a)</sup> Darci Lara Perecin Nociti                      Instituição UFMT

Assinatura \_\_\_\_\_ Julgamento \_\_\_\_\_

Prof.<sup>(a)</sup> Dr.<sup>(a)</sup> Deijanira Alves de Albuquerque                      Instituição UFMT

Assinatura \_\_\_\_\_ Julgamento \_\_\_\_\_

Prof.<sup>(a)</sup> Dr.<sup>(a)</sup> Nanci Akemi Missawa                      Instituição SES/MT

Assinatura \_\_\_\_\_ Julgamento \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, que esteve sempre ao meu lado nos bons e maus momentos, pessoas que sempre pude contar com apoio, dedicação, ajuda, compreensão e carinho.

Amo vocês.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em primeiro lugar, pois ele é o criador, quem nos dá força para seguir em frente superando todos os obstáculos.

Minha família, meu pai, minha mãe, meus irmãos, minhas cunhadas e agora minhas sobrinhas, que estiveram incansáveis ao meu lado, que me deram apoio moral, emocional, financeiro, incentivador.

Aos meus amigos, os quais sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos. Em especial Rodrigo Luis Alberton, Izabel Gomes Dutra, Wilma Neres da Silva Campos, Mariana de Medeiros Torres, Dhagma Renata Denis de Souza, Kriscia Silva Avelar, vocês fizeram ser muito mais fácil esses dois anos.

Aos estagiários Larissa Gaeta, Sarah Nunes Vechi, Thalita e Erica que estiveram comigo nas coletas, cheias de empolgação prontas para tudo sem desanimar frente aos empecilhos, sem se importar com as condições dos locais e animais.

Um agradecimento especial ao Paulo Alexandre Girardi, Simone Pereira Valeriano, que foram incansáveis comigo do início ao fim das coletas, inclusive domingos de folga ou véspera de feriado. Não esquecendo da Eveline Boa Sorte que esteve comigo véspera do Natal se colocou prontamente a ajudar atitudes assim jamais esquecerei.

Agradeço à Arleana do Bom Parto Ferreira de Almeida pelo carinho, parceria e atenção.

Agradeço ao professor Daniel Moura de Aguiar, pela ajuda com material para coleta, pela força dispensada participando das primeiras coletas e pela atenção e amizade.

Agradeço à professora Valeria Regia Franco Sousa por toda a atenção, carinho, disposição a ajudar dispensada a minha pessoa. Assim como a professora Rosa Helena que também esteve sempre atenciosa, preocupada, obrigada pelos conselhos e carinho.

Agradeço à minha orientadora, a professora Darci Lara Perecin Nociti pela confiança dispensada, pelo carinho, pela ajuda, pela compreensão, companheirismo enfim, por me tratar como uma filha praticamente, os laços que já vinham da

graduação se estreitaram ainda mais nesse mestrado e vão se continuar com certeza daqui para frente.

Agradeço ao Jean Carlos Gonçalves da Silva pela paciência, e olha que teve muita, pelo carinho, pela amizade, pelo apoio, pela disposição a ajudar.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa de Mato Grosso (FAPEMAT) pela bolsa concedida através do convênio CAPES/FAPEMAT.

Um agradecimento especial ao professor Dr. Luis Antonio Mathias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus Jaboticabal, pela disponibilização do laboratório equipamentos e material necessário a realização da prova de imunodifusão em gel de Agar para *Brucella canis*, pelo apoio, carinho, ajuda e confiança dispensada à minha pessoa.

Um agradecimento especial também ao professor Dr. Raul da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus Jaboticabal pela parceria estabelecida e disponibilização do laboratório e material necessário para a realização das provas para leptospirose.

Ainda na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus Jaboticabal, agradeço toda ajuda, apoio, amizade, confiança, cooperação, companheirismo, estímulo e carinho pois vocês me fizeram sentir em casa mesmo a uma distância tão grande e em um ambiente totalmente desconhecido. Tenho um grande carinho, uma amizade por vocês que vai continuar a crescer com certeza mesmo à distância. Obrigada Thalita Masoti Blankenheim, Nivaldo Aparecido de Assis, Felipe Jorge Silva , Gian Riccardo Ortunho Galli.

Além disso, agradeço ao Instituto de Defesa Agropecuário do Estado de Mato Grosso por colocar à disposição o Laboratório de Saúde Animal Anibal Molina.

Obrigada ao Laboratório de Saúde Animal Anibal Molina (LASA) por colocar à disposição todo material e equipamento necessário à realização da prova confirmatória para a *Brucella abortus*. Em especial para a equipe técnica que me acolheu com muito carinho, que se colocaram à disposição para qualquer tipo de ajuda, que me ajudaram efetivamente, que foram parceiros e amigos. Obrigada Teresa, Eunice, Lucia, Adilson, Francisco, Gina, bem como todos os demais servidores a amizade permanece com certeza sempre.

## EPÍGRAFE

**Um dia você aprende que:**

**... ser flexível não significa ser fraco ou não ter personalidade, pois não importa quão delicada e frágil seja uma situação, sempre existem dois lados;**

**... realmente pode suportar, que realmente é forte e que pode ir muito mais longe depois de pensar que não se pode mais.**

## RESUMO

### **SOROPREVALÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-LEPTOSPIRA E REAÇÃO ANTI-BRUCCELLA EM CÃES NO MUNICÍPIO DE CUIABÁ, MATO GROSSO, BRASIL**

A brucelose e a leptospirose são importantes zoonoses que afetam tanto o homem como os animais domésticos em todo mundo. Neste trabalho foram estudados 458 cães do município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil quanto à prevalência de reação anti-*Brucella* e presença de aglutininas anti-*Leptospira* bem como um estudo de possíveis fatores de risco associados à soropositividade para *Brucella canis* e/ou *Brucella abortus* e *Leptospira spp.* O plano amostral utilizado foi feito através de amostragem estratificada onde a população total foi dividida em subpopulações (norte, sul, leste e oeste) de modo a melhorar a acurácia da amostra. Para a *Brucella abortus* o teste sorológico de triagem utilizado foi o Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e o Teste confirmatório para as amostras positivas no AAT foi o Teste de Soroaglutinação Lenta em Tubos (SAT) e o 2 mercaptoetanol (2-ME). Para a *Brucella canis*, foi realizado o teste de Imunodifusão em Gel de Agar (IDGA). A prevalência de reação anti-*Brucella canis* foi de 21,27% e a reação anti-*Brucella abortus* foi de 6,14%. A prova para testar a presença de aglutininas anti-*Leptospira* foi a Soroaglutinação Microscópica (SAM) realizada utilizando uma coleção de antígenos vivos que incluiu 24 variantes sorológicas, encontrando uma prevalência de 25,32%. O sorovar mais prevalente da *Leptospira* foi o Patoc, seguido do Autumnalis e Canicola. Os dados obtidos no inquérito epidemiológico representado por um questionário respondido pelo proprietário no momento da coleta indicaram a faixa etária compreendida entre um e cinco anos e animais sem raça definida foram os fatores de risco comuns tanto à leptospirose canina como para *Brucella canis* e *Brucella abortus*. Especificamente para a leptospirose, a existência de ratos no ambiente doméstico

**Palavras Chave:** brucelose, cão, leptospirose, zoonose.

## ABSTRACT

### SEROPREVALENCE OF AGGLUTININS ANTI-LEPTOSPIRA ANTI-BRUCELLA AND REACTION IN DOGS IN THE MUNICIPALITY OF CUIABA, MATO GROSSO, BRAZIL

Brucellosis and leptospirosis are important zoonoses that affect both man and domestic animals worldwide. In this study, 458 dogs in the city of Cuiaba, Mato Grosso, Brazil on the prevalence of anti-*Brucella* reaction and presence of anti-*Leptospira* agglutinins as well as a study of possible risk factors associated with seropositivity for *Brucella canis* and *Brucella abortus* and *Leptospira* spp. The sampling plan used was done using stratified sampling where the population was divided into subpopulations (north, south, east and west) to improve the accuracy of the sample. *Brucella abortus* for serological screening test used was buffered acidified antigen (TAA) and the confirmatory test for positive samples in the AAT was the test tube agglutination (SAT) and 2 mercaptoethanol (2-ME). For *Brucella canis* test was used to, Agar Gel Immunodiffusion (AGID). The prevalence of anti-*Brucella canis* reaction was 21.27% and the reaction of anti-*Brucella abortus* was 6.14%. The proof test for the presence of anti-*Leptospira* agglutinins was the Microscopic Agglutination Test (MAT) performed using a collection of live antigens including 24 serovars, finding a prevalence of 25.32%. The most prevalent serovar of *Leptospira* was Patoc, followed by Autumnalis and Canicola. The data obtained in epidemiological survey represented by a questionnaire answered by the owner at the time of collection indicated the age group between one and five years and breed animals were the risk factors common to both the canine leptospirosis as for *Brucella canis* and *Brucella abortus*. Specifically for leptospirosis, the existence of rats in the home environment.

**Keywords: brucellosis, dog, leptospirosis, zoonosis**

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fig 1 - Imagem do estado de Mato Grosso destacando o município de Cuiabá Cuiabá .....	44
Fig. 2 - Imagem ampliada do município de Cuiabá com as regiões Norte,Sul, Leste e Oeste em evidência .....	44
Fig.3 - Imagem de satélite da região Oeste do Município de Cuiabá com os bairros amostrados representados pelo círculo em vermelho . .....	46
Fig. 4 - Imagem de satélite da região Leste do município de Cuiabá com os bairros amostrados representados pelo círculo em vermelho.....	46
Fig.5 - Imagem de satélite da região Sul do Município de Cuiabá com os bairros amostrados representados pelo círculo em vermelho .....	46
Fig.6 - Imagem de satélite da região Norte do Município de Cuiabá com bairros amostrados representados pelo círculo em vermelho .....	46
Fig 7 – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da UNESP- Jaboticabal.....	49
Fig. 8 – Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da UNESP- Jaboticabal .....	49
Fig. 9 – Hospital Veterinário – UFMT .....	51
Fig.10 – Imagem ilustrativa de reação positiva e reação negativa da prova do antígeno acidificado tamponado .....	51
Fig.11 – Laboratório de Saúde Animal Anibal Molina – INDEA/MT .....	51
Fig.12 – Laboratório de Saúde Animal Anibal Molina – INDEA/MT .....	51
Fig.13 – Câmara úmida com as placas de petri com o gel de Agar .....	55
Fig.14 – Placa de petri com as rosetas feitas no gel de Agar.....	55
Fig.15 – Modelo de roseta para o teste de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) contendo a disposição dos soros a serem testados .....	56

Fig.16 – Modelo de Roseta contendo as possíveis reações no teste de IDGA .....	56
Fig.17 - Gráfico demonstrativo do número de animais vacinados com vacinas polivalentes .....	59
Fig.18 - Gráfico demonstrativo da idade dos animais amostrados .....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sorovares reagentes na população animal estudada no município de Cuiabá, Mato Grosso.....	58
Tabela 2 – Número e freqüência de animais positivos para <i>Brucella canis</i> segundo a região de origem no município de Cuiabá, MT.....	65
Tabela 3 - Número e freqüência de animais positivos para <i>Brucella canis</i> e <i>Brucella abortus</i> segundo a idade dos animais acometidos .....	66
Tabela 4 - Número e freqüência de animais positivos para <i>Brucella canis</i> e <i>Brucella abortus</i> segundo o sexo do animal acometido .....	66
Tabela 5 - Número e freqüência de animais positivos para <i>Brucella canis</i> e <i>Brucella abortus</i> segundo a raça e manejo dos animais acometidos .....	67

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	18
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	19
<b>2.1 Leptospirose canina</b> .....	19
2.1.1 HISTÓRICO .....	19
2.1.2 ETIOLOGIA .....	19
2.1.3 RESISTÊNCIA E SENSIBILIDADE .....	20
2.1.4 SUSCEPTIBILIDADE E IMUNIDADE .....	21
2.1.5 SOROVARES MAIS FREQUENTES .....	21
2.1.6 OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO .....	22
2.1.7 TRANSMISSÃO .....	23
2.1.8 SINAIS CLÍNICOS .....	24
2.1.9 DIAGNÓSTICO .....	25
2.1.10 PATOGENIA .....	26
2.1.11 TRATAMENTO .....	27
2.1.12 PREVENÇÃO E CONTROLE .....	28
2.1.12.1 Imunização .....	28
2.1.13 IMPORTÂNCIA PARA SAÚDE PÚBLICA .....	29
<b>2.2 Brucelose Canina</b> .....	31
2.2.1 HISTÓRICO .....	31
2.2.2 SINONÍMIAS .....	31
2.2.2 ETIOLOGIA .....	32
2.2.3 RESISTÊNCIA E SENSIBILIDADE .....	32
2.2.4 SUSCEPTIBILIDADE E IMUNIDADE .....	33

2.2.5 OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO .....	34
2.2.6 PREVALÊNCIAS ENCONTRADAS .....	34
2.2.7 TRANSMISSÃO .....	35
2.2.8 SINAIS CLÍNICOS .....	36
2.2.9 PATOGENIA .....	36
2.2.10 DIAGNÓSTICO .....	38
2.2.10.1 DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO .....	38
2.2.10.1.1 Esfregaço Corado .....	38
2.2.10.1.2 Cultura .....	39
2.2.10.2 DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO.....	39
2.2.10.2.1 Teste de Aglutinação Rápida .....	40
2.2.10.2.2 ELISA .....	40
2.2.10.2.3 Soroaglutinação em Tubos (SAT) mais 2-Mercaptoetanol .....	40
2.2.10.2.4 Fixação de Complemento .....	41
2.2.10.2.5 Imundifusão em Gel de Ágar .....	41
2.2.11 TRATAMENTO .....	41
2.2.12 PREVENÇÃO E CONTROLE .....	42
2.2.13 IMPORTÂNCIA PARA A SAÚDE PÚBLICA .....	42
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>43</b>
<b>3.1 Objetivo Geral .....</b>	<b>43</b>
<b>3.2 Objetivo Específico .....</b>	<b>43</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>44</b>
<b>4.1 Caracterização do Município .....</b>	<b>44</b>
<b>4.2 População Canina .....</b>	<b>45</b>

<b>4.3 Caracterização das Amostras</b> .....	45
<b>4.4 Inquérito Epidemiológico</b> .....	47
<b>4.5 Colheita de Sangue</b> .....	47
<b>4.6 Análise Estatística</b> .....	47
<b>4.7 Provas Sorológicas</b> .....	48
4.7.1 LEPTOSPIROSE .....	48
4.7.1.1 Soroaglutinação Microscópica (SAM) .....	48
4.7.2 BRUCELOSE .....	50
4.7.2.1 Teste de Triagem: Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) ou Rosa bengala ou Soroaglutinação Rápida em Placas .....	50
4.7.2.2 Teste confirmatório para as amostras positivas no AAT: Soroaglutinação Lenta em tubos e 2 Mercaptoetanol .....	51
4.7.2.3 Imunodifusão em Gel de Ágar .....	54
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	57
<b>5.1 Leptospirose Canina</b> .....	57
5.1.1 LEVANTAMENTO SOROLÓGICO DE AGLUTININAS ANTI-LEPTOSPIRA .....	57
5.1.2 INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO E ANÁLISE DE FATOR DE RISCO .....	60
<b>5.2 Brucelose Canina</b> .....	64
5.2.1 LEVANTAMENTO SOROLÓGICO DE REAÇÃO ANTI-BRUCELLA .....	64
5.2.2 INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO E ANÁLISE DE FATOR DE RISCO .....	65
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	70
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	71
REFERÊNCIAS .....	72

ANEXOS ..... 84

**Apêndice** ..... 87

## 1 INTRODUÇÃO

A brucelose e a leptospirose são importantes zoonoses que afetam tanto o homem como os animais domésticos em todo mundo, são consideradas doenças de risco ocupacional afetando principalmente açougueiros, veterinários, laboratoristas, magarefes e trabalhadores rurais. O estudo da população canina visa o conhecimento do potencial desempenhado por estes animais como reservatórios de zoonoses, uma vez que o cão é fonte de infecção de inúmeras doenças transmissíveis.

A leptospirose canina tem uma relação sócio–econômico–cultural direta e é difundida por fatores como o crescimento desordenado de grandes centros urbanos, as migrações, as deficiências nas condições de saneamento básico e o acúmulo desordenado de lixo, que promove a expansão da população de roedores. A persistência do agente na natureza e o elevado potencial de infecção são assegurados pela diversidade de identidades sorológicas, a multiplicidade de espécies hospedeiras e o relativo grau de sobrevivência no ambiente sem parasitismo. Dentre as modalidades de fonte de infecção dos animais acometidos, a de maior relevância é o papel dos portadores (convalescentes e sadios), excretadores de leptospiras a quem se atribui a maior parcela de responsabilidade pela persistência de focos da doença. Devido a longa duração desta condição e ampla facilidade de deslocamento e por não manifestar sinais de infecção, eles se tornam os reservatórios de manutenção do agente no ambiente, ainda que essas não se multipliquem fora do organismo dos hospedeiros.

A brucelose canina tem como etiologia a *Brucella canis* na maioria dos casos, porém, a doença tem também como causa a infecção por *Brucella abortus*. A infecção é de caráter crônico em cães, canídeos silvestres e no homem, tendo distribuição mundial. O caráter zoonótico da brucelose canina deve ser considerado face a complexa relação da população canina com os seres humanos e principalmente pelo estreito contato entre cães e crianças no ambiente familiar.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Leptospirose Canina

#### 2.1.1 HISTÓRICO

Adolf Weil, em 1882, descreveu uma doença que ele observou em duas ocasiões envolvendo quatro pacientes em 1870. Os sinais clínicos eram semelhantes e muito particulares. A doença era caracterizada pelo aparecimento súbito, febre alta, esplenomegalia e icterícia (BRASIL, 2002; LEVETT, 2001).

A leptospirose foi conhecida com diferentes nomes, incluindo: "Tifo bilioso" por Weil; Doença de Weil, icterícia infecciosa, etc.

O agente foi isolado pela primeira vez, no Japão, em 1915, por Inada & Ito. Os japoneses isolaram leptospiros de trabalhadores em minas, denominando "*Spirochaeta icterohaemorrhagiae*" (FAINE, 1994).

Em 1915, Uhlenhut & Fromme, provaram a existência do agente etiológico, inoculando sangue de soldados suspeitos de doença de Weil em cobaias. Os animais inoculados morreram e leptospiros foram microscopicamente identificadas, sendo chamada de "*Spirochaeta icterohaemorrhagiae*" (apud GOMES, 2007).

Miyajima et al (1917) apud GOMES (2007) demonstraram que ratos eram possíveis carreadores de leptospiros, mostrando que 40% deles eram portadores renais.

#### 2.1.2 ETIOLOGIA

É causada por espécies patogênicas do gênero *Leptospira* (VIJAYACHHARI et al., 2008; FARR et al, 1995). A leptospira é uma bactéria gram-negativa, aeróbia classificada como Spiroqueta, da família Leptospiracea (TEIXEIRA et al, 2008).

A *Leptospira interrogans* que é a espécie patogênica, possui mais de 200 sorovares classificados com base em determinantes antigênicos (PICKERING et al, 2006; HEYMAN, 2004; COHEN & POWDERLY, 2004; BHARTI et al, 2003; VINETZ, 2001; BRENNER et al, 1999). Com mais recente classificação genética baseada na afinidade do DNA, as leptospirosas patogênicas estão divididas em oito espécies, distribuídas em mais de 200 sorovariedades e arranjadas em 23 sorogrupos (FAINE, 1999).

Em 1992, o Subcomitê de Taxonomia de *Leptospira* propôs uma nova divisão para esse gênero, o qual é formado atualmente por oito genomoespécies patogênicas: *L. borgpetersenii*, *L. interrogans sensu stricto*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. weilii*, *L. kirschneri*, *L. inadai* e *L. fainii*, distribuídas em 26 sorogrupos e 250 sorovares, e três genomoespécies saprófitas, ou de vida livre: *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*, com raros registros de infecções (KMETY & DIKKEN, 1993).

As leptospirosas são microrganismos flexíveis, helicoidais, móveis, com 6-12µm de comprimento e 0,1µm de diâmetro, apresentam extremidades encurvadas, com flagelos subterminais, não são visíveis à luz direta, mas à microscopia de campo escuro. São aeróbicos e microaerófilos e crescem em pH ótimo de 7,2 a 7,6 em temperaturas de 28-30°C (MARTINS, 2005).

Os cães são considerados hospedeiros de manutenção do sorovar Canicola e hospedeiros acidentais de outros sorovares e são considerados potenciais fonte de infecção para proprietários de animais de companhia (BOLIN, 1996).

Historicamente, os sorovares Canicola e Icterohaemorrhagiae têm sido responsáveis pela maioria dos casos de leptospirose canina. No entanto tem aumentado a ocorrência envolvendo outros sorovares como Pomona, Gryppotyphosa e Bratislava (HARKIN & GARTRELL, 1996).

### 2.1.3 RESISTÊNCIA E SENSIBILIDADE

A *Leptospira interrogans* sobrevive no solo úmido ou na água, que tenham pH neutro a levemente alcalino, temperatura elevada entre 28°C e 30°C. Não sobrevive em águas com alto teor salino (TEIXEIRA et al, 2008).

#### 2.1.4 SUSCEPTIBILIDADE E IMUNIDADE

A leptospirose é uma doença que acomete tanto animais quanto o homem (PICKERING et al, 2006; HEYMAN, 2004; COHEN & POWDERLY, 2004).

Grande parte dos animais atua como transmissor ou vetor da leptospirose (VIJAYACHARI et al, 2008, PATARAKUL et al, 2010). A doença é comum em bovinos, bubalinos, eqüinos, caninos, ovinos e caprinos (SRIVASTAVA, 2006; CACHAY & VINETZ, 2005). Podem se comportar como reservatórios o bovino, ratos, camundongos peridomiciliares, animais de companhia, particularmente cães e animais potencialmente selvagens como morcegos (BUNNELL et al, 2000), marsupiais e uma grande variedade de roedores (MATHIAS et al, 2005; CACHAY & VINETZ, 2005), gambás e guaxinins que habitam ambientes urbanos e suburbanos também (PRESCOTT et al, 2002).

Os seres humanos são hospedeiros acidentais, com transmissão ocorrendo através do contato direto ou indireto com a urina de animais infectados (PATARAKUL et al, 2010).

A leptospirose tem sido tradicionalmente considerada uma doença dos agricultores principalmente em locais onde há criação de gado e suínos, pois estes animais muitas vezes são cronicamente colonizados por leptospira patogênica com transmissão freqüente aos seres humanos (VINETZ et al, 1996; KO et al, 1999) e viajantes de aventura (CACHAY & VINETZ, 2005).

Cães de todas as idades podem ser afetados e a incidência é maior em machos (FRAZER, 1991).

#### 2.1.5 SOROVARES MAIS FREQUENTES

Na América do Norte, os sorovares mais comumente isolados são o Pomona, o Icterohaemorrhagiae, o Grippotyphosa, o Hardjo e o Bratislava (KALIN et al, 1999).

Na Europa a doença normalmente é atribuída aos sorovares Canicola e Icterohaemorrhagiae (GREENE et al, 1998; FAINE, 1994).

Nos Estados Unidos e Canadá aumentou os relatos de casos de leptospirose canina com infecção envolvendo os sorovares Bratislava, Grippotyphosa e Pomona (SCANZIANI, 1994; RENTKO et al, 1992; PRESCOTT et al, 1991).

Kalin, 1999, descreve em seu estudo três casos de leptospirose canina associado ao sorovar Pomona em Quebec no CANADÁ.

O primeiro relato de casos de leptospirose canina causada por *Leptospira interrogans* sorovar Icterohaemorrhagiae foi feito na cidade de Madras, Índia (SRIVASTAVA, 2006).

Geisen et al, 2007, ao estudar os dados de 42 cães com diagnóstico de leptospirose no sul da Alemanha verificou que o sorovar mais reagente foi o Grippotyphosa diferente dos contidos na vacina.

No Brasil, os inquéritos sorológicos já realizados sobre a leptospirose em cães encontraram resultados variáveis, entre 3 a 30%, e os sorovares mais freqüentes têm sido Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Canicola, Pyrogenes, Hardjo, Castellonis e Ballum (AGUIAR et al, 2007).

#### 2.1.6 OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO

É uma doença de ampla distribuição geográfica com maior prevalência em regiões de climas tropicais e em ambientes quentes e úmidos com precárias condições sanitárias (FAINE, 1994).

Ela ocorre em ambientes urbanos de países industrializados e em desenvolvimento, bem como nas regiões rurais em todo mundo (BHARTI et al, 2003).

Os casos esporádicos e surtos da doença já foram relatados nos E.U.A., Reino Unido, Austrália, Nova Zelândia, Rússia, países da Europa e Ásia (SRIVASTAVA, 2006). Inúmeros surtos de leptospirose têm ocorrido em países como Brasil, Nicarágua e Índia e alguns desses resultantes de calamidades naturais como ciclones e inundações (VIJAYACHARI et al, 2008).

No Brasil, infecções com *Leptospira interrogans* foram reconhecidas pela primeira vez em 1917 no Paraná (MERIEN et al, 1992); em 1930 foi diagnosticado o

primeiro caso de leptospirose humana na cidade de São Paulo (PRESCOTT et al, 1991). No Rio de Janeiro, em 1940, confirmou-se a presença do agente causador da leptospirose em cães no Brasil, através da necropsia de 11 cães com manifestações clínicas da doença (BROD et al, 2005). Em 1954 descreveu-se o primeiro caso de febre canicola humana, relacionando o sorovar Canicola pelo contato com os cães, freqüentemente infectados por esse agente (VERONESI et al, 1954).

### 2.1.7 TRANSMISSÃO

As leptospiras são transmitidas aos animais através do contato direto ou indireto. A transmissão direta ocorre através do contato com a urina infectada (GREENE et al, 1998). As *Leptospiras* eliminadas na urina penetram no corpo através da pele lesada ou de mucosas intactas. A transmissão também ocorre após feridas de mordidas; contato venéreo; via transplacentária; e ingestão de tecidos, solo, água, panos de cama, alimentos contaminados e outros fômites (NELSON & COUTO, 2001).

As fontes de infecção zoonóticas podem variar em diferentes regiões (CACHAY & VINETZ, 2005).

Uma grande variedade de animais servem como reservatórios da *Leptospira* para um ou mais sorotipos e podem eliminar os microrganismos através da urina por meses ou anos após ser infectados (HEYMAN, 2004; BRASIL, 2006).

Os animais de estimação podem entrar em contato com as leptospiras através do contato com urina de animais selvagens ou outros reservatórios através de atividades como nadar, beber ou andar através da água contaminada, solo ou lama (BROWN & PRESCOTT, 2008).

O sêmen contaminado também é uma via de eliminação que pode proporcionar a transmissão da doença. A presença no útero pode causar infecção fetal e subseqüentes problemas reprodutivos crônicos, além de excreção de *Leptospira* pós-parto nas descargas uterinas (FILHO, 2007).

Dentre as modalidades de fonte de infecção dos animais acometidos, a de maior relevância é o papel dos portadores (convalescentes e sadios), excretores de

leptospiras a quem se atribui a maior parcela de responsabilidade pela persistência de focos da doença. Devido à longa duração dessa condição e à ampla facilidade de deslocamento e por não manifestarem sinais de infecção, eles se tornam os reservatórios de manutenção do agente no ambiente (BATISTA et al, 2005).

A infecção humana ocorre devido ao contato acidental com os animais portadores ou ambiente contaminado por *Leptospiras*. A fonte primária é o animal excretor, de cujas *Leptospiras* são excretadas dos túbulos renais para o meio ambiente com a urina dos animais (VIJAYACHARI et al, 2008).

A transmissão inter-humana é rara e sem importância epidemiológica (BRASIL, 2006).

#### 2.1.8 SINAIS CLÍNICOS

A leptospirose em cães, embora tenha uma incidência baixa de doença clínica, (HARKIN & GARTRELL, 1996) ela pode ser muito grave e às vezes fatal, podendo se apresentar de forma aguda, subaguda ou crônica (GREENE et al, 2006; LANGSTON et al, 2003).

A gravidade da doença pode variar de acordo com o sorotipo envolvido indo de uma infecção assintomática até uma doença fatal envolvendo rins, fígado e outros órgãos vitais (COHEN & POWDERLY, 2004). Animais jovens são mais severamente afetados (GREENE et al, 1998).

Nos cães há quatro síndromes que inclui: hemorrágica aguda, icterica, subaguda ou urêmica e a forma inaparente. As primeiras duas formas são causadas primariamente, pela *Leptospira interrogans* sorovar Icterohaemorrhagiae enquanto que as duas últimas são causadas pela *Leptospira interrogans* sorovar Canicola (GOMES, 2007). Os estágios iniciais da doença nas formas aguda, icterica e subaguda são clinicamente indistinguíveis; elas são caracterizadas por: depressão, anorexia, vômitos e diarreia ou constipação (GOMES, 2007; HARKIN & GARTRELL, 1996). Os sinais clínicos específicos de cada síndrome aparecem pouco depois.

A maioria das complicações da leptospirose está associada à localização da bactéria. O órgão mais atingido varia de acordo com o sorovar envolvido. Por

exemplo, a *Leptospira interrogans* sorovar Icterohaemorrhagiae causa classicamente hemorragia aguda ou insuficiência hepática severa e uremia subagudas. A *Leptospira kirschneri* sorovar Grippotyphosa e a *Leptospira interrogans* sorovar Pomona também são associados à insuficiência renal severa e lesões hepáticas em cães (BIRNBAUM et al, 1998; BROWN et al, 1996; HARKIN & GARTRELL, 1996); nas infecções pela *Leptospira interrogans* sorovar Canicola os animais apresentam freqüentemente nefrite intersticial aguda, com menor envolvimento hepático; a *Leptospira interrogans* sorovar Bratislava causa insuficiência renal aguda, que pode ser severa (TEIXEIRA et al, 2008).

Sinais sistêmicos da enfermidade: febre, depressão, anorexia, vômito, relutância em se mover (devida a dor muscular generalizada, uma dor renal ou meningite), desidratação e congestão das membranas mucosas, em alguns animais colapso vascular e morte superaguda. Pode ocorrer insuficiência renal aguda, geralmente com oligúria ou anúria; e insuficiência hepática aguda, geralmente icterícia e CID (Coagulação Intravascular Disseminada) (NELSON & COUTO, 2001; GREENE et al, 1998).

#### 2.1.9 DIAGNÓSTICO

O método de referência para diagnóstico sorológico de leptospirose é o teste de aglutinação microscópica (MAT) teste de referência da OMS (Organização Mundial de Saúde). O sorovar aglutinante na maior diluição do soro é indicativo do sorogrupo infeccioso, mas reações cruzadas entre os sorovares são comuns (LEVETT, 2001).

As provas laboratoriais mais utilizadas para diagnóstico da leptospirose além da soroaglutinação microscópica (SAM), são o *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Porém o sinal nas provas depende dos anticorpos circulantes em quantidade suficiente para sua detecção (FILHO, 2007). A Reação de Polimerase em Cadeia (PCR), vem sendo utilizada com vantagens, por ser uma técnica sensível, específica e rápida. É aplicada para detecção em várias amostras clínicas tais como soro, líquido cerebrospinal, urina, fezes, tecidos e até mesmo sêmen

(FILHO, 2007; HARKIN et al, 2003). As colorações com prata auxiliam na identificação de *Leptospiras* nos diferentes órgãos dos hamsters inoculados como fígado, pulmão, cérebro, rins, testículo, útero e ovário (FILHO, 2007).

A imunohistoquímica é hábil na identificação de *Leptospiras* no aparelho reprodutor, sendo mais eficaz na fase crônica da doença (BRANDESPIM et al, 2004).

Segundo SILVA et al, 2005 a visualização direta em microscópio de campo escuro de amostras de urina contaminadas é mais eficiente na identificação de *Leptospiras* que o isolamento e a imunohistoquímica.

#### 2.1.10 PATOGENIA

A *Leptospira* pode sobreviver por longos períodos de tempo no ambiente (TRUEBA et al, 2004). Depois de ganhar entrada através de abrasões da pele ou mucosas, as *Leptospiras* se multiplicam rapidamente na corrente sanguínea (TEIXEIRA et al, 2008) e se espalham via hematogena para vários órgãos-alvo como os rins, fígado e pulmão (BHARTI et al, 2003; PALANIAPPAN et al, 2007), baço, olhos, órgãos do sistema nervoso central e trato genital nos quais continuam a se multiplicar resultando em um amplo espectro de manifestações clínicas que variam conforme a extensão da lesão e o tipo de órgão acometido (LEVETT, 2001; BAL et al, 1994).

Caso o mecanismo de defesa dos hospedeiros possibilite que os mesmos ultrapassem a fase aguda da infecção, atinge-se o segundo período clínico, dito de imunidade, pois são demonstrados níveis variáveis de anticorpos circulantes e de leptospirúria, pois nesta ocasião as culturas de urina passam a ser positivas, caracterizando a colonização dos túbulos contornados renais dos animais acometidos, local privilegiado, onde os anticorpos só são observados em níveis muito reduzidos. A excreção urinária de *Leptospira* passa a ser intermitente, podendo persistir por longos períodos de tempo, variável de acordo com a espécie animal e a variante sorológica da *Leptospira* envolvida. Nos roedores, sua presença

pode ser registrada permanentemente na urina devido a uretra constituir-se numa via comum para a eliminação da urina e do sêmen (BRASIL, 2002; BRASIL, 1995).

A severidade das lesões varia conforme a virulência da *Leptospira* e a suscetibilidade do hospedeiro. Alguns sorovares tendem a causar hemorragia aguda, insuficiência hepática e, na maioria das vezes, insuficiência renal. É sabido que infecções em hospedeiros acidentais tendem a produzir uma forma de infecção clínica muito mais séria do que aquela que se desenvolve nos hospedeiros habituais (LANGSTON & HEUTER, 2004; LEVETT, 2001; WOHI, 1996)

#### 2.1.11 TRATAMENTO

O tratamento da leptospirose é diferente depende da gravidade e duração dos sintomas no momento da apresentação. Pacientes com azotemia pré - renal podem ser reidratadas inicialmente, enquanto sua função renal é observada, mas pacientes em insuficiência renal aguda requerem diálise, com caráter de urgência (LEVETT, 2001; FRAZER, 1991). Monitorização cardíaca também é desejável durante os primeiros dias após a internação. Tratamento com antibiótico específico como a penicilina pode ser usada em pacientes com insuficiência renal para controlar a leptospiremia. Doxiciclina tem sido relatada com capacidade de reduzir a duração e severidade da doença em pacientes com leptospirose icterica e em relatos de prevenção da leptospirose ou de uma redução significativa em sua duração (LEVETT, 2001).

Dose única de 25 mg/kg de diidroestreptomicina, por via intramuscular tem sido utilizada. A estreptomicina é nefrotóxica, não devendo ser fornecida aos animais em quadros agudos de leptospirose (pequenos animais, bezerros) para estes, oferecer penicilina e outros, esperando que o animal saia desta fase aguda para utilizar a estreptomicina (GARCIA & MARTINS, 2008).

## 2.1.12 PREVENÇÃO E CONTROLE

Estratégias em longo prazo para o controle da doença incluem a adoção de medidas de higiene, controle de roedores, vacinação (SRIVASTAVA, 2006) e saneamento ambiental (VIJAYACHARI et al., 2008).

Compreensão global da eco-epidemiologia e cultura de uma comunidade que enfrenta o problema de leptospirose é uma condição essencial para a evolução de uma medida eficaz e aceitável de controle (VIJAYACHARI et al., 2008). Educação em saúde para a população em alto risco de infecção (BROWN & PRESCOTT, 2008).

A vacinação de animais domésticos evita que adoçam, mas não impede que se infectem; neste caso podem apresentar leptospirose, em grau mais leve e por um período menor do que ocorre com a infecção em animais não vacinados (BRASIL, 2002).

### 2.1.12.1 Imunização

Os principais objetivos de vacinas veterinárias são para melhorar a saúde e o bem-estar dos animais de companhia, aumentar a produção de gado com uma relação custo-benefício eficaz e evitar a transmissão entre humanos de ambos os animais domésticos e selvagens (MEEUSEN et al, 2007).

Vacinas compostas pela combinação dos sorovares Icterohaemorrhagiae e Canicola tem sido comercializadas a mais de 30 anos (WOHI, 1996; WARD et al, 2002). Parece que após a introdução dessas vacinas a leptospirose clássica caracterizada por doença hemorrágica aguda ou subaguda grave ou insuficiência hepática com presença de uremia tem diminuído (RENTKO et al, 1992; SCANZIANI, 1994; HARTMAN, 1984).

Hoje existe dois tipos de vacinas contra a leptospirose disponível no mercado: as vacinas atenuadas e as vacinas inativadas, contudo esses dois tipos de vacinas revelam significativos problemas de segurança (WANG et al, 2007).

As *Leptospiras* evoluíram de tal forma que conseguem escapar do sistema de defesa imunológico. A translocação rápida de células de *Leptospiras* patogênicas entre mamíferos permite que a bactéria atinja rapidamente a corrente sanguínea e se espalhe a vários órgãos (WANG et al, 2007) e, dessa forma, é um desafio desenvolver uma vacina segura e eficaz contra a leptospirose.

Sabe-se que a vacina previne a doença, no entanto, a especificidade para sorovares limita a eficácia de vacinas de células inteiras mortas (KOIZUMI & WATANABE, 2005; SRIVASTAVA, 2006). A prevalência de vários sorotipos de *Leptospira* e a tendência dos animais vacinados para tornar-se portadores dos organismos faz com que a vacina torne-se parcialmente eficaz (SRIVASTAVA, 2006). Antígenos de *Leptospira* que induzem a imunidade cruzada de proteção para os sorovares diferentes são procurados como novas vacinas candidatas (KOIZUMI & WATANABE et al, 2005).

Um programa de vacinação bem sucedido exige que os estudos epidemiológicos devam ser continuados para avaliar a extensão do problema e o conhecimento do envolvimento de diferentes sorovares de *Leptospira* em causar doença em uma dada população (SRIVASTAVA, 2006).

### 2.1.13 IMPORTÂNCIA PARA SAÚDE PÚBLICA

A leptospirose canina tem sido considerada uma doença infecciosa emergente de importância veterinária e potencial zoonótico (CACHAY & VINETZ, 2005).

Existem relatos de pequeno número de casos de infecções adquiridas através dos cães por veterinários ou por proprietários dos animais infectados.

Ela constitui um sério problema sanitário, não só pela gravidade de sua patogenia, mas também como elemento potencial de transmissão ao homem, devido à grande proximidade estabelecida entre os seres humanos e os cães (MASCOLLI et al, 2002).

No Brasil, a leptospirose é considerada uma doença endêmica e constitui um sério risco à saúde pública; é comum a ocorrência de surtos epidêmicos nas épocas

de maior precipitação pluviométrica. A manutenção de *Leptospira* nas regiões urbanas e rurais do Brasil é favorecida pelo clima tropical úmido e uma vasta população de roedores. O crescimento urbano desordenado e a grande quantidade de lixo espalhado sobre vias e terrenos baldios propiciam também um ambiente ideal para proliferação da população murina (FIGUEIREDO et al, 2009).

Somente no ano 2000 foram diagnosticados 4125 casos de leptospirose humana sendo que destes, 2,45% evoluíram para óbito (BRASIL, 2002).

Em Mato Grosso, segundo o Sistema de Informação Nacional de Agravos de Notificação (SINAN) foram confirmados no ano de 2005, 18 casos e no ano de 2006, 8 casos de leptospirose humana.

## 2.2 Brucelose Canina

### 2.2.1 HISTÓRICO

A doença foi descrita inicialmente por Carmichael (1966), durante episódios de abortamentos em canis de Nova Jersey, Estados Unidos da América. A partir daí, a ocorrência de brucelose por *Brucella canis* foi confirmada em diversos países.

No Brasil, a presença de cães infectados por *B. canis* foi confirmada tanto por investigações que isolaram o agente como por inquéritos sorológicos que identificaram a presença de anticorpos séricos anti *B. canis*. O primeiro relato sobre a confirmação da enfermidade no Brasil ocorreu em Minas Gerais, a partir da soroaglutinação positiva e isolamento do agente de uma cadela que havia abortado (GODOY et al, 1977).

Estudos conduzidos com identificação, isolamento do agente (GODOY et al, 1977; LARSSON & COSTA, 1980; KEID, 2001) e inquéritos sorológicos (MAIA et al, 1999; MORAES, 2000; AZEVEDO et al, 2003) enfatizaram a importância clínica e epidemiológica do agente na população canina.

### 2.2.2 SINONÍMIAS

Febre ondulante, febre de malta, febre do mediterrâneo (no homem) (BRASIL, 2006; CORBEL, 2006; ACHA & SZYFRES, 2001) aborto contagioso, aborto infeccioso, aborto epizoótico (em animais) e enfermidade de Bang (em bovinos), são algumas das sinonímias da brucelose (BRASIL, 2006; ACHA & SZYFRES, 2001).

### 2.2.2 ETIOLOGIA

Há nove espécies reconhecidas de *Brucella* spp a *B. abortus*, *B. melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis* e *B. microti* (SCHOLZ et al, 2008; FOSTER et al, 2007) estas três últimas constituem cepas isoladas de mamíferos marinhos e são consideradas como novas espécies (CORBEL, 2006).

A *B. abortus* está normalmente associada com o gado, *B. melitensis* com ovinos e caprinos, *B. suis* em suínos (embora biovars 2, 4 e 5 são especificamente associados com lebres, renas e roedores, respectivamente) (CORBEL, 2006; MORENO & MORIYN, 2006). A *B. ovis* causa uma infecção específica para ovinos e não foi implicada em doenças humanas, a *B. neotomae* foi isolada em poucas ocasiões de ratos do deserto (CORBEL, 2006).

A brucelose canina tem como agente etiológico principalmente a *B. canis* e em condições especiais a *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis* (ALMEIDA et al, 2004; FRAZER, 1991). A infecção é de caráter crônico em cães, canídeos silvestres e no homem (ALMEIDA et al, 2004).

A *B. canis* é um cocobacilo pequeno e imóvel, gram-negativo, aeróbico, sem capsula, não formador de esporos e parasita intracelular obrigatório (CARMICHAEL & GREENE, 1998; VASCONCELLOS et al, 1987).

### 2.2.3 RESISTÊNCIA E SENSIBILIDADE

Em zonas temperadas a *Brucella* pode sobreviver no solo, esterco ou água, dependendo da temperatura. Normalmente, em baixas temperaturas (entre 2 e 8°C), as bactérias vivem até várias semanas ou mesmo meses, desde que haja material orgânico suficiente disponível e de que ela esteja protegida dos raios de sol. Quando expostas aos raios do sol ao ar livre, constantemente morrem, fenômeno este, que ocorre mais rapidamente quando as bactérias são expostas aos raios do sol acima de 18°C. Nas temperaturas de 56°C ou superior as *Brucellas* são rapidamente

destruídas. Pasteurização (realizado em 62<sup>o</sup>C por 30 min), de produtos lácteos elimina os microorganismos e o risco de contaminação humana (MORENO & MORIYN, 2006; VASCONCELLOS et al, 1987).

São prontamente destruídas pela fervura e desinfetantes comuns como carbonato de sódio 1:10 em 30 minutos; fenol a 2,5% em 15 minutos; formaldeído a 2% em 15 minutos; permanganato de potássio 1:5000 em 10 min; soda cáustica 1:1000 em 15 min (VASCONCELLOS et al, 1987).

#### 2.2.4 SUSCEPTIBILIDADE E IMUNIDADE

A gama de hospedeiros é limitada aos cães domésticos e canídeos silvestres (JOHNSON & WALKER, 1992; CARMICHAEL & GREENE, 1998), entretanto, já houve o registro de felinos soropositivos (RANDHAWA et al, 1977; LARSSON et al, 1984; CARMICHAEL & GREENE, 1998). Todas as idades e ambos os sexos parecem ser igualmente suscetíveis (FRAZER, 1997).

Cobaias, camundongos, ratos e primatas são susceptíveis à infecção experimental. O coelho é o animal de laboratório mais susceptível e apresenta orquite e abscesso peritoneal após a inoculação intraperitoneal de altas doses do agente (CARMICHAEL, 1998).

Os cães também se apresentam susceptíveis à infecção pela *B. abortus*, principalmente em ambientes rurais, quando em contato com espécies potencialmente acometidas como a bovina. Humanos são relativamente resistentes à infecção por *B. canis*, ao todo já foram reportados no mundo mais de 35 casos. A maioria das infecções em humanos ocorreu devido ao contato da pessoa que manuseia o organismo ou pelo proprietário de um animal de estimação infectado. Algumas fontes de infecção humana permanecem desconhecidas (JOHNSON & WALKER, 1992; CARMICHAEL & GREENE, 1998)

O caráter zoonótico da *B. canis* também deve ser considerado, face aos relatos clínicos em humanos no Brasil e no mundo (ROXO et al., 1990; CARMICHAEL & GREENE, 1998).

### 2.2.5 OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO

Tem distribuição cosmopolita com registro de casos nas mais diferentes regiões do globo (ACHA & SZYFRES, 2001; GERMANO et al, 1987).

### 2.2.6 PREVALÊNCIAS ENCONTRADAS

Em 1978, Saegusa et al encontraram 2,3% de prevalência na área de Tokyo; no México, Flores-Castro & Segura (1976 apud MORAES et al, 2002) descreveram resultados positivos de 28% dos 500 animais testados. No sudeste de Ontario, Canadá Bosu & Prescott (1980) encontraram uma incidência de 0,3% nos animais estudados.

No Brasil, Germano et al (1987) em seu estudo encontrou uma prevalência de aglutinas anti-*Brucella canis* de 5,4% na cidade de Campinas, São Paulo. Almeida et al (2004) encontraram 14,2% de prevalência de *B. canis* e 2,8% de *B. abortus* na cidade de Alfenas, MG. Azevedo et al (2003) encontraram em Santana da Parnaíba, São Paulo uma prevalência de 2,2% de anticorpos anti-*Brucella canis*. Cavalcanti et al (2006) em sua pesquisa de anticorpos anti-*Brucella* encontrou uma soropositividade de 5,88% na região metropolitana de Salvador, BA.

Aguiar et al 2005 em sua pesquisa sobre ocorrência de anticorpos anti-*Brucella canis* e *Brucella abortus* em cães da zona rural e urbana no município de Monte Negro, RO, encontraram 0,3% reação ao teste confirmatório para a *B. abortus* e para a *B. canis* 3,6% apresentaram positividade na prova de IDGA mas nenhum no teste confirmatório utilizando o 2-ME. Megid et al (1999) em seu estudo sobre a ocorrência de brucelose canina em canis com históricos de abortos encontrou uma positividade de 4,6% a 51,1% de ocorrência. Moraes et al (2002) no seu estudo de prevalência da brucelose canina na microrregião da Serra de Botucatu, São Paulo observaram 0,84% de positividade no teste confirmatório.

### 2.2.7 TRANSMISSÃO

A principal fonte de infecção por *B. canis* são os machos e as cadelas doentes pelo contágio sexual ou pela via oral através da ingestão de restos de aborto ou alimentos contaminados com urina, sêmen ou descargas vaginais provenientes de animais infectados (CARMICHAEL & GREENE, 1998; GERMANO et al, 1987; VASCONCELLOS et al, 1987; HUBBERT et al, 1980; JOHNSON & WALKER, 1992; CARMICHAEL & GREENE, 1998) enquanto que por *B. abortus* pela ingestão de restos placentários de ruminantes brucélicos (MALEK DOS REIS et al, 2008).

A identificação dos cães doentes é importante, pois esses animais constituem fonte de infecção, uma vez que podem eliminar o agente no ambiente pela urina, por ejaculados, por secreções vaginais, por fetos abortados ou pelas fezes (CORBEL, 2006; BAEK et al, 2003; FRAZER, 1991). Estudos mostram que esses materiais podem conter até  $10^{10}$  organismos/ml.

O sêmen também pode ser uma fonte de infecção, pois grande número de organismos são expelidos pelo sêmen de animais infectados especialmente entre 3 e 11 semanas pós-infecção, 60 semanas após infecção não pode ser recuperado *B. canis* através do sêmen (JOHNSON & WALKER, 1992; CARMICHAEL & GREENE, 1998).

O sêmen também pode ser uma fonte de infecção, pois grande número de organismos são expelidos pelo sêmen de animais infectados especialmente entre 3 e 11 semanas pós-infecção, mas segundo Johnson & Walker, (1992) e Carmichael & Greene, (1998) 60 semanas após infecção a *B. canis* não pode ser recuperada através do sêmen.

A doença se dissemina rapidamente entre os cães alojados em canis muito próximos especialmente na época do acasalamento ou quando ocorrem abortos. Os cães podem adquirir a infecção por *B. abortus*, *B. melitensis* ou *B. suis* de ruminantes e suínos abortados, geralmente por ingestão de material fetal ou placentário. Têm sido descrita a transmissão da brucelose de cães para o homem e ocasionalmente para outros animais (FRAZER, 1991). A excreção urinária também é um perigo potencial para a transmissão ao homem (CORBEL, 2006).

O homem pode adquirir acidentalmente a *Brucella* de modo similar a do cão, face à sua estreita convivência com este animal (GERMANO et al, 1987).

#### 2.2.8 SINAIS CLÍNICOS

Os primeiros sinais nas fêmeas inclui aborto durante o terço final da gestação, além de natimortos e falhas de concepção. Os abortos podem seguir as gestações subseqüentes, a fêmea pode não ciclar em decorrência da infecção. Os machos infectados geralmente desenvolvem uma linfadenite generalizada e freqüentemente uma epididimite, uma periorquite e uma prostatite (CARMICHAEL & GREENE, 1998; FRAZER, 1991; HUBBERT et al, 1980; HENDDERSON et al, 1974), alguns machos podem apresentar dermatite escrotal (JOHNSON & WALKER, 1992). A pirexia não é característica (CARMICHAEL & GREENE, 1998; FRAZER, 1991).

Infecções crônicas podem conduzir os animais à esterilidade e ao aparecimento de distrofias osteoarticulares (HOLLETT, 2006; CARMICHAEL & GREENE, 1998; GERMANO et al, 1987; HUBBERT et al, 1980; HENDDERSON et al, 1974). Uveíte anterior recorrente com edema de córnea foi detectado em cães infectados por si só ou com outros sinais (CARMICHAEL & GREENE, 1998).

#### 2.2.9 PATOGENIA

Após a penetração na membrana mucosa acredita-se que a *B. canis* é fagocitada por macrófagos e outras células fagocíticas e transportadas para os gânglios linfáticos resultando em linfadenopatia transitória periférica. Dos nódulos linfáticos ela se espalha hematogenamente para outros órgãos (CARMICHAEL & GREENE, 1998).

A bacteremia é usualmente detectável duas ou quatro semanas após infecção e pode persistir por 6 a 64 meses. Os organismos de *B. canis* que estão contidos dentro de leucócitos são transmitidos pelo sangue onde continuam a se replicar.

Eles também podem se replicar no tecido linforreticular incluindo os gânglios linfáticos, baço e fígado. Órgãos reprodutivos que podem ser infectados incluem o útero de fêmeas grávidas e os testículos, próstata e epidídimo de machos (JOHNSON & WALKER, 1992; VASCONCELLOS et al, 1987).

A *B. canis* infecta somente o útero da fêmea grávida através da colonização de células epiteliais da placenta o que pode resultar em morte embrionária ou fetal ou aborto e às vezes as cadelas podem levar a gestação a termo e numa mesma ninhada nascerem filhotes vivos e mortos. Filhotes vivos provenientes dessas crias geralmente morrem dentro de algumas horas ou dias, embora alguns também possam sobreviver. Fêmeas grávidas geralmente não apresentam sinais da doença, mas podem eliminar o organismo na urina ou secreção vaginal em diferentes intervalos de tempo (JOHNSON & WALKER, 1992).

No epidídimo, a *B. canis* provoca uma inflamação pronunciada que é caracterizada por infiltrados de células mononucleares, fagocitose de espermatozóides por macrófagos e células gigantes multinucleadas e a produção de anticorpos aglutinantes anti-espermatozóides. Estes anticorpos anti-espermatozóide não estão relacionados com os anticorpos contra *B. canis* em si (JOHNSON & WALKER, 1992; CARMICHAEL & GREENE, 1998). A orquite não é uma característica tão proeminente da brucelose em si quanto a epididimite. A *B. canis* infecta a próstata, o que provavelmente explica a presença de um maior número de organismos na urina de machos infectados do que na de fêmeas. Embora a próstata continue persistentemente infectada não há sinais clínicos de prostatite (JOHNSON & WALKER, 1992).

Ocasionalmente pode infectar outros tecidos como linforreticular e reprodutivo. Também foram relatados uveíte, discoespondilite, meningite, glomerulonefrite e dermatite causada por *B. canis* piogranulomatosa (CARMICHAEL & GREENE, 1998).

## 2.2.10 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico etiológico para brucelose canina é efetuado pela detecção de anticorpos séricos contra *B. canis* ou pelo isolamento do microorganismo nos animais infectados (AZEVEDO et al, 2004; IRIBARREN et al, 1999; FRAZER 1991; VASCONCELLOS et al, 1987). A análise do sêmen também pode ser útil no diagnóstico através da observação de anormalidades que podem ser vistas cinco semanas pós infecção. Dentre as anormalidades estão espermatozoides imaturos e acrossomos deformados. Podem ser observados 15 semanas pós-infecção, grandes agregados de células inflamatórias, geralmente compostos de neutrófilos, macrófagos aderentes contendo espermatozoides fagocitados (CARMICHAEL & GREENE, 1998; JOHNSON & WALKER, 1992).

### 2.2.10.1 Diagnóstico Bacteriológico

Geralmente, pode-se isolar facilmente o microorganismo do exsudato vaginal, dos cães abortados, do sangue, leite e do sêmen dos cães infectados (FRAZER, 1991).

#### 2.2.10.1.1 Esfregaço corado

Esfregaço dos cotilédones da placenta, corrimento vaginal ou o conteúdo do estômago fetal podem ser coradas por Ziehl-Neelsen modificado (Stamp) ou métodos Kosters. Agregados de organismos intracelulares fracamente ácidos com a morfologia da *Brucella* podem ser observados. Cuidados devem ser tomados com outros agentes infecciosos, tais como *Coxiella burnetii* ou *Chlamydia* que podem se assemelhar a *Brucella* (CORBEL, 2006).

#### 2.2.10.1.2 Cultura

A *Brucella* pode ser mais facilmente isolada no período seguinte ao aborto ou parto de um animal infectado, mas o isolamento pode também ser tentado post-mortem (JOHNSON & WALKER, 1992).

As *Brucellas* são excretadas em grande número ao parto e pode ser cultivado a partir de uma série de materiais, incluindo o muco vaginal, placenta, o conteúdo do estômago fetal e leite utilizando os meios adequados de cultura seletivos (CORBEL, 2006; CARMICHAEL & GREENE, 1998; JOHNSON & WALKER, 1992; MOORE, 1969). É de extrema importância que a contaminação fecal e ambiental do material seja mínima para dar a maior chance de sucesso do isolamento de *Brucella*. Se outro material não está disponível ou se encontra contaminado, o conteúdo do estômago fetal geralmente são uma excelente fonte de *Brucella* (CORBEL, 2006).

Em algumas circunstâncias pode ser apropriado utilizar linfonodos retrofaríngeos, supramamários e ilíacos, o tecido do úbere, testículos e útero gravídico para tentar o isolamento da *Brucella* post-mortem (CORBEL, 2006; JOHNSON & WALKER, 1992).

A hemocultura não deve ser o único critério de diagnóstico de infecção porque a bacteremia pode ser ausente em animais cronicamente infectados (CARMICHAEL & GREENE, 1998), mas é a forma de diagnóstico precoce da infecção (JOHNSON & WALKER, 1992). A cultura de urina é positiva em alguns cães quando a hemocultura é negativa, no entanto, esta é dificultada devido a grande contaminação (CARMICHAEL & GREENE, 1998).

#### 2.2.10.2 DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO

Devido à praticidade, os testes sorológicos são os mais comumente usados para diagnóstico da brucelose canina (AZEVEDO et al, 2004, CARMICHAEL & GREENE, 1998; FRAZER 1991). No entanto, pode haver um período de incubação

muito longo, em alguns animais infectados e os indivíduos podem permanecer com sorologia negativa, por um período considerável após a infecção (CORBEL, 2006).

#### 2.2.10.2.1 Teste de Aglutinação Rápida (SAR)

Trata-se de um teste rápido, sensível, de fácil execução que detecta anticorpos precocemente e com uma sensibilidade de 99% (CARMICHAEL & GREENE, 1998; CASAS OLASCOAGA, 1976). É um excelente teste de triagem, no entanto, devido a resultados falso-positivos não é um teste definitivo devendo ser confirmado através da utilização de outras provas mais específicas (AZEVEDO et al, 2004).

#### 2.2.10.2.2 Elisa

A fonte de antígenos é fundamental para estabelecer a especificidade do teste, antígenos muito purificados tem sido utilizados nesta técnica, que é muito específica, mas pode ser menos sensível que o teste de soroaglutinação lenta em tubos na triagem de cães infectados e não está muito disponível (CARMICHAEL & GREENE, 1998; JOHNSON & WALKER, 1992).

#### 2.2.10.2.3 Soroaglutinação em Tubos (SAT) e 2-Mercaptoetanol (2-ME)

Também chamada de prova lenta porque a leitura dos resultados é feita em 48 horas, é a prova sorológica mais antiga e ainda hoje bastante empregada para a confirmação de infecção, após teste de soroaglutinação rápida em placas. É uma prova padronizada frente a um soro padrão internacional, sendo o resultado expresso em unidades internacionais. Trata-se da combinação do teste de

aglutinação em tubos, que é um teste bastante sensível, mas não muito específico, com o teste do 2 mercaptoetanol que reduz o número de reações falso positivas (AZEVEDO et al, 2004; CARMICHAEL & GREENE, 1998; JOHNSON & WALKER, 1992).

#### 2.2.10.2.4 Fixação de Complemento

Trata-se de um teste trabalhoso e complexo, que exige pessoal treinado e laboratório bem equipado. Trata-se de uma prova sensível e específica para detectar anticorpos de *Brucella* (CASAS OLASCOAGA, 1976).

#### 2.2.10.2.5 Imundifusão em Gel de Ágar (IDGA)

Este teste foi desenvolvido para ser um método de diagnóstico sensível para a brucelose canina. Este teste pode detectar precipitação no soro de animais com 5 a 10 semanas após infecção e os anticorpos persistem por várias semanas ou meses após a bacteremia cessar, é uma técnica pouco utilizada devido a falta de padronização da técnica e dificuldade de interpretação dos resultados (CARMICHAEL & GREENE, 1998; JOHN & WALKER, 1992). Iribarren et al (1999) em seu estudo comparativo entre as técnicas de IDGA e SAR em Buenos Aires, Argentina observaram uma sensibilidade de 95,6% e especificidade de 100%.

### 2.2.11 TRATAMENTO

Devido a sua localização intracelular, a antibioticoterapia é incerta, o organismo é susceptível a diversos antibióticos, mas, a terapia pode falhar ou pode haver recidivas (CARMICHAEL & GREENE, 1998).

A terapia em longo prazo (com estreptomicina e tetraciclina combinadas, por exemplo) obtém sucesso na maioria dos casos (FRAZER, 1991).

#### 2.2.12 PREVENÇÃO E CONTROLE

A incidência da infecção é muito mais baixa nos canis onde os cães são alojados individualmente (FRAZER, 1991; JOHNSON & WALKER, 1992).

Devem ser implantados procedimentos vigorosamente continuados para a erradicação da doença em um plantel: confirmação de diagnóstico, quarentena, determinação da fonte de infecção, eliminação do modo de transmissão, identificação e eliminação dos animais infectados e adoção de práticas de prevenção de futuros surtos (FRAZER, 1991; JOHNSON & WALKER, 1992)

Os tratadores de animais também podem ser uma importante fonte de manutenção da infecção, sendo assim, a utilização de desinfetantes como amônia quaternária e iodóforos têm-se mostrado efetiva para desinfecção das instalações e equipamentos (CARMICHAEL & GREENE, 1998).

#### 2.2.13 IMPORTÂNCIA PARA A SAÚDE PÚBLICA

O caráter zoonótico da brucelose canina por *B. canis* deve ser considerada em face da complexa relação da população canina com seres humanos, principalmente pelo estreito contato estabelecido entre cães e crianças (CARMICHAEL & GREENE, 1998).

Até o momento há o registro de mais de 35 casos de infecção por *B. canis* em seres humanos em todo o mundo, tanto em infecções naturais como naquelas adquiridas em laboratório como doença ocupacional (CARMICHAEL & GREENE, 1998; AZEVEDO et al, 2003).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Detectar a prevalência de aglutininas anti- leptospira spp e reação anti-brucella spp. em cães no município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Detectar contato prévio dos cães no município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil com *Leptospira* spp;
- Detectar contato prévio dos cães no município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil com *Brucella* spp;
- Verificar os fatores de risco associados à ocorrência de leptospirose e brucelose em cães no município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil;
- Avaliar o potencial zoonótico da população canina para a população humana.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Mato Grosso (CEPA/UFMT) sob o número de protocolo: 23108.040913/08-2 e teve como objeto de estudo 458 cães do município de Cuiabá, capital do estado de Mato Grosso, Brasil.

### 4.1 Caracterização do Município

O município de Cuiabá situa-se na região centro-sul do estado de Mato Grosso, possui uma área de 3.538,167 Km<sup>2</sup> com uma população estimada em 542.861 habitantes (IBGE 2006). O clima é tropical quente e úmido, as chuvas se concentram de setembro a abril, a precipitação média anual é de 1.469,4 mm<sup>3</sup>. A temperatura média chega a 34,1°C, mas as máximas absolutas chegam a 40°C. Predominam relevos com baixas amplitudes com altitudes que variam de 146 a 250 metros na área da própria cidade.



Fig 1 - Imagem do estado de Mato Grosso destacando o município de Cuiabá

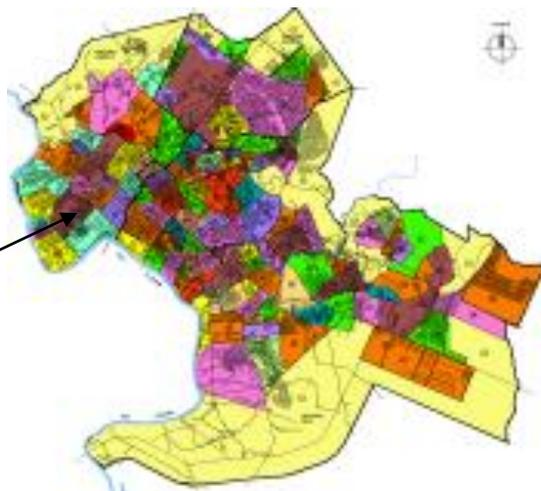


Fig. 2 - Imagem ampliada do município de Cuiabá com as regiões Norte,Sul, Leste e Oeste em evidência.

## 4.2 População Canina

A população canina segundo o Centro de Controle de Zoonoses de Cuiabá (CCZ/Cuiabá) após realização do censo animal em 2007 é de aproximadamente 96.504 cães sendo que destes animais 25.101 estão localizados na região Norte do município, 18.866 na oeste; 23.140 na Leste e 29.397 na região sul do município.

## 4.3 Caracterização das Amostras

Foram coletadas 458 amostras de sangue de cães no município de Cuiabá. O tamanho da amostra foi delimitado segundo o programa Epiinfo versão 6.0 utilizando a população total de animais do município uma prevalência esperada 0,5% (utilizada para doenças sem prevalência conhecida) e um nível de confiança de 95%. O plano amostral utilizado foi feito através de amostragem estratificada, pois a população total foi dividida em subpopulações (norte, sul, leste e oeste) de modo a melhorar a acurácia da amostra para que desta forma, a população canina do município fosse realmente representada. Delimitou-se então, o número de amostras por região: Na região Sul coletou-se amostras de 140 animais, na região Norte 119, na região Leste 108 e na Oeste 91. Os bairros de cada região foram submetidos a um sorteio onde as coletas foram realizadas com uma representatividade de 10% dos bairros de cada região e, nos bairros houve sorteio das ruas e as casas foram escolhidas ao acaso obedecendo a princípios de aleatoriedade. Os bairros sorteados da região norte foram Jardim Vitória, Residencial Paiaguás, Jardim Humuarama, Centro América e Altos da Glória; na região leste foram Planalto, Barbado, Praeiro, Jardim Paulista, Recanto dos Pássaros e Jardim Petrópolis; na oeste Consil, Santa Marta, Cohab Nova, Jardim Araçá, Coesa, Jardim Antártica e Bordas da Chapada; na sul foram Jardim Aphoena, Jardim dos Ipês, Nossa Senhora Aparecida, Vista Alegre, São José, Real Parque e Santa Laura.



#### **4.4 Inquérito Epidemiológico**

O inquérito epidemiológico representado por um questionário respondido pelo proprietário no momento da coleta continha informações a respeito da caracterização do animal (raça, idade, sexo); a sanidade (vacinação, número de doses e tipo de vacina); o comportamento (acesso às ruas, convivência com outros animais) e aspecto reprodutivo (castrado ou não, se já realizou a cruza, entre outros); e, por último sobre o ambiente em que o animal vive (presença de ratos, infra-estrutura do peridomicílio) (Anexo I).

#### **4.5 Colheita e processamento do Sangue**

Foram coletadas 5 a 8 ml de sangue, aproximadamente por animal em tubo de vidro estéril (vacutainer) pela venipunção da veia cefálica ou jugular no período de dezembro de 2008 a dezembro de 2009. Esse material foi acondicionado em caixa isotérmica com gelo até a chegada ao laboratório onde foi centrifugado a 3.000 rotações durante um período de 10 minutos. Após, o soro foi separado, acondicionado em microtubos (eppendorfs) e armazenado em freezer com temperatura média de - 20 a - 22°C até o momento da realização das provas sorológicas.

#### **4.6 Análise Estatística**

O estudo estatístico utilizado foi o estudo descritivo baseado em uma amostra de 458 cães no município de Cuiabá para avaliar sua exposição ao agente causal *Leptospira* spp e/ou *Brucella* spp, avaliando os resultados dos exames laboratoriais. Além disso, os fatores de risco associados às doenças foram avaliados, traçando um perfil dos animais através da distribuição de freqüência e utilização de histogramas.

## 4.7 Provas Sorológicas

### 4.7.1 LEPTOSPIROSE

#### 4.7.1.1 Soroaglutinação Microscópica (SAM)

A prova utilizada para testar a presença de aglutininas anti-leptospira foi a soroaglutinação microscópica (SAM), segundo Santa Rosa (1970), realizada no laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Estadual de São Paulo - Campus Jaboticabal (UNESP/JABOTICABAL) utilizando uma coleção de antígenos vivos que inclui 24 variantes sorológicas (sv) de leptospiras patogênicas (Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Batavie, Canicola, Whitcombi, Cinoptery, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panamá, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffii, Shermani, Tarassovi, Sentot) e duas de Leptospiras saprófitas (Andamana e Patoc). A triagem foi efetuada na diluição de 1:50 e, quando houve aglutinação, os soros foram titulados em uma série geométrica de diluições de razão de dois. O título foi dado como a recíproca da maior diluição em que houve aglutinação.

A análise dos resultados considerou como mais provável o sorovar que apresentou o maior título e maior frequência. Os animais que apresentaram duas ou mais variantes sorológicas com títulos idênticos foram excluídos desta análise, e considerados reatores para a *Leptospira* spp.



Fig 7 – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da UNESP- Jaboticabal



Fig. 8 – Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da UNESP- Jaboticabal

#### Descrição da Técnica:

##### Triagem:

Primeiramente foi diluído o soro na proporção de 1:25 (0,4 ml de soro + 9,6 ml de PBS); em seguida distribuiu-se 30µl da diluição do soro 1:25 nos poços das placas com fundo em U; após acrescentou-se 30µl da solução antigênica correspondente (diluição final 1:50);

Misturou-se levemente e foi deixado repousar na estufa 28°C por 30-40 min;

Passando o período de descanso a placa foi examinada no microscópio com condensador de campo escuro a seco, objetiva 10x e ocular 10 a 16x.;

Anotou-se o grau de aglutinação (+ a +++) para cada antígeno.

Os soros que na prova de triagem mostraram redução do número de leptospiras livres de 50 a 100% foi submetido a prova de titulação que consistiu em:

Partindo da diluição 1:50 preparou-se mais cinco diluições consecutivas e ao dobro (1: 100 a 1: 1.600);

Preparou-se placas com fundo em U para teste e controle em número igual ao de antígenos;

Distribuiu 30µl de cada diluição foram distribuídas nos respectivos poços das placas da diluição de 1:50 na primeira fileira, e assim por diante, e quando chegou no último tubo foi desprezado 30µl;

Após misturar e incubar durante 30-40 minutos em estufa a 28°C conforme descrito na prova de triagem; foi considerado como ponto final de reação a mais alta diluição do soro capaz de aglutinar ou lisar 50% ou mais das *Leptospiras*.

O título do soro foi expresso pela diluição dada.

Antígeno são culturas de cepas padrão de *Leptospira* sp, mantidas por repiques semanais em meio líquido de Stuart Ellinghausen ou similar. Só devem ser

usados como antígenos, culturas de 4 a 14 dias, que não apresentem contaminantes nem autoaglutinação.

Interpretação da prova:

Negativo: ausência de aglutinação

+ presença de aglutinação com 75% de *Leptospira* livre

++ presença de aglutinação com 50% de *Leptospira* livre

+++ presença de aglutinação com 25% de *Leptospira* livre

++++ presença de aglutinação com menos de 25% de *Leptospira* livre

#### 4.7.2 BRUCELOSE

4.7.2.1 Teste de Triagem: Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) ou Rosa bengala ou Soroaglutinação Rápida em Placas.

Este teste foi realizado no laboratório de Doenças Infecciosas do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso (HOVET/UFMT). Foi preparado com o antígeno na concentração de 8%, tamponado em pH ácido (3,65) e corado com o Rosa de Bengala. O primeiro passo foi equilibrar os soros a temperatura ambiente antes da realização da prova. Com micropipetador de 30µl dispensou-se esse volume de cada soro em cada área da placa de vidro (delimitada com quadrados de 4cm). Posteriormente colocou-se 30µl do antígeno ao lado do soro previamente colocado sem misturar. Em seguida, com um misturador múltiplo homogeneizou-se o soro e o antígeno com movimentos circulares. A placa foi agitada com movimentos oscilatórios permitindo que a mistura soro-antígeno fluísse lentamente dentro de cada círculo durante 4 minutos. Finalizando, a leitura foi realizada na caixa de luz indireta com anotação dos resultados, onde era considerado positivo o teste que apresentava aglutinação.



Fig. 9 – Hospital Veterinário – UFMT.



Fig. 10 – Imagem ilustrativa de reação positiva e reação negativa da prova do antígeno acidificado tamponado.

#### 4.7.2.2 Teste confirmatório para as amostras positivas no AAT: Soroaglutinação Lenta em tubos e 2 Mercaptoetanol (2-ME)

Este teste foi realizado no Laboratório de Saúde Animal Anibal Molina (LASA) do Instituto de Defesa Agropecuário de Mato Grosso (INDEA/MT). A metodologia seguiu o manual técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT), 2005.



Fig. 11 – Laboratório de Saúde Animal Anibal Molina – INDEA/MT



Fig. 12 – Laboratório de Saúde Animal Anibal Molina – INDEA/MT

Os passos realizados foram:

- Diluição do antígeno para soroaglutinação lenta em tubos 100 vezes em solução salina a 0,85% contendo 0,5% de fenol. Obtendo concentração final de 0,045.
- Diluição do antígeno para soroaglutinação lenta em tubos 50 vezes em solução salina a 0,85% sem adição de fenol, concentração final 0,090%.
- Preparação da solução de 2-ME a 0,1M misturando-se 7,8 ml de 2-ME a 992,20 ml de solução salina a 0,85% sem fenol, ou volumes menores, proporcionalmente.
- Para cada amostra testada colocou-se em uma estante duas fileiras de quatro tubos.
- Identificou-se o primeiro tubo com o número correspondente ao soro a testar.
- A primeira fileira correspondeu às quatro diluições do soro do teste de soroaglutinação lenta em tubos e deve ser marcada com uma letra T. A outra fileira, em que se fará o teste do 2-ME, foi ser marcada com a letra M.
- Com uma pipeta colocou-se no fundo do primeiro tubo da primeira fileira, deixou-se fluir 0,08 ml de soro. No segundo tubo, depositou-se 0,04 ml, no terceiro 0,02 ml e no quarto 0,01 ml.
- Repetiu-se o procedimento para depositar as mesmas quantidades de soro na segunda fileira de tubos.
- Para todas as amostras de soro, repetiu-se o procedimento de forma similar, pipetando os soros para cada duas fileiras de tubos adequadamente identificados.
- Foi incluído soro controle positivo com atividade aglutinante conhecida.
- Foi incluído soro controle negativo no teste do 2-ME.
- Agregou-se a cada um dos tubos das fileiras T, 2 ml do antígeno diluído em salina fenicada.
- Agregou-se 1 ml de solução de 2-ME a 0,1 M a cada um dos tubos das fileiras M.
- Misturou-se bem agitando a estante.
- Deixaram-se as estantes com as amostras em repouso durante 30 min à temperatura ambiente.
- Após 30 min, empregando-se outro dispensador automático, agregou-se a cada tubo da fileira M, 1 ml do antígeno diluído 1:50 (0,09% de células) em solução salina fisiológica (sem fenol). A concentração final do antígeno na solução ficou 0,045% e a do 2-ME foi de 0,05M.

- Misturou-se bem agitando a estante.
- Incubou a 37°C por 48 ±3 horas.
- A leitura do teste foi feita através de uma fonte de luz indireta contra um fundo escuro e opaco, com uma forte luz que atravessa os tubos. As fontes de luz estranhas foram reduzidas. As interpretações basearam-se no grau de aglutinação do antígeno e na firmeza dos grumos, após agitação suave dos tubos.
- Anotaram-se os resultados.
- Interpretação dos resultados: o grau de aglutinação em cada uma das distintas soluções foi classificado como: completo (+), incompleto (I) ou negativo (-):

Reação completa: é aquela em que o líquido da mistura soro-antígeno aparece translúcido e a agitação suave não rompe grumos;

Reação incompleta: é aquela em que a mistura soro-antígeno aparece parcialmente translúcida, e uma agitação suave não rompe os grumos;

Reação negativa: é aquela em que a mistura soro-antígeno aparece opaca ou turva, e uma agitação suave não revela grumos.

A interpretação dos resultados foi realizada segundo o quadro 1.

Quadro 1 – Interpretação da prova de Soroaglutinação Lenta em tubos e 2 Mercaptoetanol

2-ME SAL	NR	25I	25	50I	50	100I	100	200I	200
NR	-								
25I	-	-							
25	-	-	+						
50I	-	-	+	+					
50	INC	INC	+	+	+				
100I	INC	INC	+	+	+	+			
100	INC	INC	+	+	+	+	+		
200I	INC	INC	+	+	+	+	+	+	
200	INC	INC	+	+	+	+	+	+	+

+ Positivo

- Negativo

SAL = Teste de Soroaglutinação Lenta

2 – ME = Teste do 2- Mercaptoetanol

NR = Não Reagente

I = Reação Incompleta

INC = Reação Inconclusiva

= Reação que não pode ocorrer

#### 4.7.2.3 Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA)

O diagnóstico de *B. canis* foi realizado pelo teste de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) padronizado com antígeno que consiste de proteínas e lipopolissacarídeos solúveis, extraídos da bactéria *B. ovis*, amostra Reo 198, produzido pelo TECPAR, as provas foram realizadas no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Estadual de São Paulo – Campus Jaboticabal, inicialmente com a preparação do tampão borato composto de:

Ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) .....	6,2g
Cloreto de Potássio (KCL) .....	7,25g
Água destilada .....	800 ml

Em seguida agitou-se para dissolver e ajustou-se o pH em 8,3 com hidróxido de sódio a 0,2 M.

Posteriormente iniciou-se o preparo do gel de Ágar utilizando-se:

Agar Noble .....	1g
Tampão Borato .....	100 ml
Cloreto de Sódio (NaCl) .....	10g

A mistura foi levada ao banho-maria até o gel ficar translúcido e homogêneo e em seguida 12 ml do agar quente foi distribuído em placas de petri de vidro que permaneceu em temperatura ambiente até solidificação completa e usado imediatamente após completa solidificação. No momento do uso perfurou-se o ágar com roseta contendo 7 perfuradores de 4,0 mm de diâmetro, 1 central e 6 periféricos, e distância entre eles de 3,0 mm. Retirou-se o ágar dos poços com o

extrator de ágar. O gel, após cortado, foi imediatamente preenchido com soro e antígeno. Nos poços das rosetas foram colocados 25  $\mu$ l dos soros a testar, alternadamente em 3 poços periféricos, 25  $\mu$ l do soro controle positivo intercalado nos 3 poços restantes periféricos e o antígeno no poço central (figura 15).

Em seguida as lâminas foram colocadas em caixas com ambiente úmido, e incubadas em temperatura ambiente.

A leitura do teste foi realizada após 24 e 48 horas, utilizando sistema de iluminação com luz indireta e fundo preto, para melhor visualização utilizou-se lente de aumento.

O resultado final considerado foi aquele após leitura de 48 horas.



Fig. 13 – Fotografia da câmara úmida com as placas de petri com o gel de ágar.

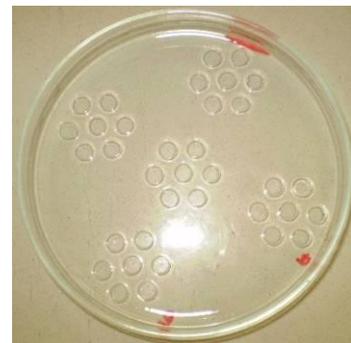


Fig 14 – Fotografia da placa de petri com as rosetas feitas no gel de Agar.

#### Interpretação dos resultados:

Reação positiva é indicada por uma linha de precipitação entre o poço de soro teste e o poço de antígeno, a qual apresenta continuidade com linha de precipitação do soro controle positivo (fig.16).

Na reação fraca positiva a linha de precipitação do soro controle apresenta leve curvatura, unindo-se com a outra linha de precipitação do soro controle. Esta união ocorre rente ao poço do soro-teste (fig.16).

A reação negativa não apresenta linha de precipitação entre o soro teste e o antígeno. As linhas do soro controle prolongam-se até ao poço do soro teste sem encurvar-se ou unir com outra linha de precipitação (fig.16).

A reação inespecífica apresenta linha de precipitação sem identidade com o soro-controle (fig.16).

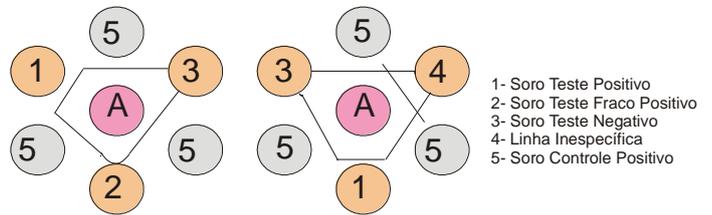
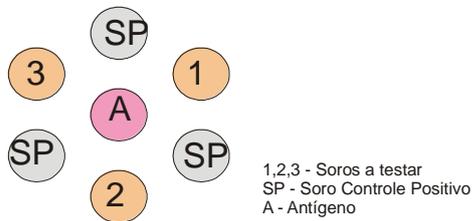


Figura 15 – Modelo de roseta para o teste de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) contendo a disposição dos soros a serem testados.

Figura 16 – Modelo de Roseta contendo as possíveis reações no teste de IDGA.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Leptospirose Canina

#### 5.1.1 LEVANTAMENTO SOROLÓGICO DE AGLUTININAS ANTI-LEPTOSPIRA

Estudando os animais que apresentaram aglutininas anti-*Leptospira* e, considerando como positivos títulos maior/igual 1:100 foi encontrada uma prevalência de 116 (25,32%) de cães positivos à *Leptospira* spp. Alguns estudos realizados no Brasil encontraram freqüências semelhantes como as do estudo de Aguiar et al (2007) que observou que 27,3% dos animais estudados no município de Monte Negro, Rondônia, apresentaram anticorpos anti-*Leptospira* spp. Yasuda et al (1980) encontrou 21,6% de animais reagentes ao estudar cães de rua na cidade de São Paulo. Batista et al (2005) encontrou 21,4% de prevalência de anticorpos anti-*Leptospira*. O trabalho de Blazius et al (2005) em Itapema, Santa Catarina encontrou uma freqüência de 10,5% de cães positivos. Magalhães et al (2007) verificou 13,1% de prevalência em cães domiciliados e não domiciliados no município de Belo Horizonte, Minas Gerais. Silva et al (2006) estabeleceu uma ocorrência entre 15,52% e 20,28% de cães reagentes à *Leptospira* spp em Botucatu, São Paulo. Avila et al (1998) encontrou 34,8% de prevalência em Pelotas, Rio Grande do Sul.

Essas diferenças na percentagem de positividade podem ser explicadas pela variedade de fatores que influenciam na ocorrência da leptospirose, com destaque para a topografia, região, temperatura, umidade, precipitação pluviométrica, reservatórios selvagens, reservatórios domésticos e outros fatores ambientais (ALVES et al, 2000).

Foi observado, entre os animais positivos à leptospirose, reações com diferentes sorovares envolvidos. Dos 24 sorovares testados 18 obtiveram pelo menos uma reação. Destacaram-se (Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Batavie, Canicola, Whitcombi, Grippytyphosa, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Panamá, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffii, Sentot) e duas de *Leptospiras* saprófitas (Andamana e Patoc) (tabela 1).

Tabela 1 – Sorovares reagentes na população animal estudada no município de Cuiabá, Mato Grosso

<b>Sorovar</b>	<b>Reações ocorridas</b>	<b>Frequência</b>
<b>Autumnalis</b>	30	25,86%
<b>Castellonis</b>	10	8,62%
<b>Canicola</b>	13	11,21%
<b>Whitcombi</b>	03	2,59%
<b>Copenhageni</b>	02	1,72%
<b>Icterohaemorrhagiae</b>	02	1,72%
<b>Pomona</b>	01	0,86%
<b>Pyrogenes</b>	01	0,86%
<b>Hardjo</b>	01	0,86%
<b>Sentot</b>	03	2,59%
<b>Patoc</b>	34	29,31%
<b><i>Leptospira</i> sp</b>	16	13,80%
<b>TOTAL</b>	116	100%

Observou-se que 34 animais reagiram a mais de um sorovar, com variação de dois à oito sorovares envolvidos o que pode indicar existência de reações cruzadas. Os títulos variaram de 1:100 a 1:1600. Animais reagentes a mais de um sorovar foi considerado o sorovar com maior título, quando não foi possível diferenciar o sorovar de maior titulação foi considerado positivo à *Leptospira* sp.

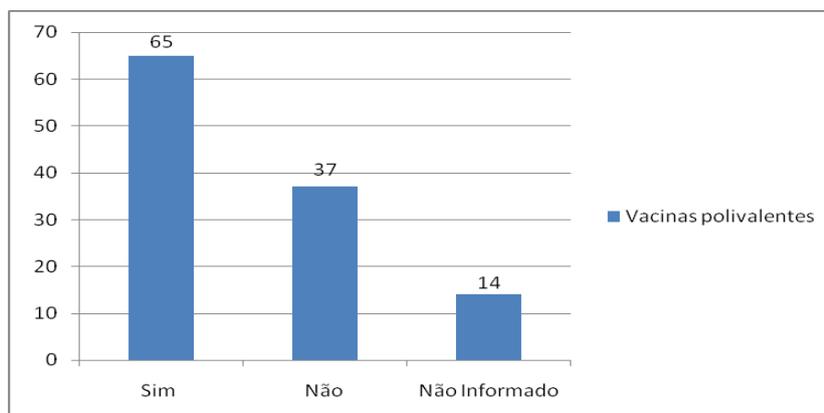
Saber se o animal foi vacinado e o tempo entre a vacinação e a coleta do sangue do animal nos permite saber se a reação em questão é uma reação vacinal ou se trata de uma reação do contato natural do animal com a bactéria. Entre os animais positivos 65 (56,03%) foram vacinados com vacinas polivalentes, cerca de 14 (12,07%) consiste em casos não informados (fig.17), os casos não informados são explicados devido ao fato da pessoa que respondeu ao inquérito epidemiológico muitas vezes não se tratar daquela que realmente cuida do animal e há também aqueles casos em que às vezes a pessoa fica inibida em dizer que não vacina seu animal de estimação. No entanto, 31,90% (37) consiste em animais reconhecidamente não imunizados. Percentual relativamente alto e que indica que esses animais estão passíveis a todas as possíveis doenças, inclusive àquelas as quais a vacina confere imunidade ou protege de uma apresentação mais grave.

Títulos considerados baixos, de 100 e 200, podem ser encontrados em amostras de animais convalescentes, como título residual de infecção prévia ou em casos de infecção recém-instalada e podem ser significantes em animais não vacinados (FURTADO et al, 1997). Tem sido sugerido que a infecção ou vacinação anterior deve produzir um título inferior a 1:300, mas que os títulos das vacinas pode chegar a 1:1250 (HARKIN & GARTRELL, 1996).

No momento da coleta apenas quatro animais (3,74%) daqueles que foram positivos haviam recebido uma dose da vacina polivalente num período inferior a três meses, o que sugere que a aglutinina encontrada pudesse vir a ser uma reação vacinal. No entanto, dos quatro animais, três foram reagentes ao sorovar Autumnalis, um sorovar não encontrado em nenhuma vacina comercial disponível no mercado. O outro animal reagiu a três sorovares que aparecem juntos em vacina comercial: Canicola, Copenhageni e Grippytyphosa, evidenciando este sim como uma reação vacinal, os títulos nesse animal foram 1:400, 1:400 e 1:200, respectivamente.

Vacinas comercializadas hoje contém em sua formulação dois (Canicola e Icterohaemorrhagiae) quatro (Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippytyphosa e Pomona) ou sete sorovares de leptospira (Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippytyphosa, Copenhageni, Pomona, Hardjo e Pyrogenes). O sorovar mais encontrado não está na composição de nenhuma dessas vacinas comerciais.

Fig.17 – Número de animais vacinados com vacinas polivalentes em Cuiabá, Mato Grosso



O sorovar mais encontrado nas amostras positivas foi o Patoc seguido pelo Autumnalis. O sorovar Canicola só apareceu em terceiro e o Icterohaemorrhagiae em sexto lugar, sorovares freqüentemente encontrados em vacinas comerciais, e os

mais associados a casos de leptospirose canina. Os resultados obtidos não condizem com o que Yasuda et al (1980) apresentou em seu estudo com cães de rua na cidade de São Paulo, no qual encontrou os sorovares mais envolvidos em casos de leptospirose canina foram o Canicola, Icterohaemorrhagiae, Gryppotyphosa e Balum. Resultado parecido também foi observado por Avila et al (1998) no município de Pelotas, RS, que apresentou como mais prevalente o sorovar Canicola, seguido de Icterohaemorrhagiae. Magalhães et al (2007) também encontrou como sorovar mais freqüente o Canicola, seguido de Ballum, Pyrogenes e Icterohaemorrhagiae em Belo Horizonte, MG. No entanto, os resultados obtidos em Cuiabá, estão de acordo com alguns trabalhos como o de Prescott et al (2002) que, ao avaliar cães em Ontario, observou como sorovares mais envolvidos o Autumnalis e Bratislava com envolvimento de Grippytyphosa e Pomona também; e o de Batista et al (2005) que encontrou o sorovar Autumnalis como o de maior freqüência seguido de Copenhageni e Canicola em Campina Grande, Paraíba. Batista et al (2004) encontrou como mais prevalente o sorovar Autumnalis, Pomona, Grippytyphosa e Patoc. Blazius et al (2005) encontrou em cães errantes na cidade de Itapema, SC, como sorovar mais prevalente o sorovar Pyrogenes seguido de Canicola, Ictehaemorrhagiae e Copenhageni.

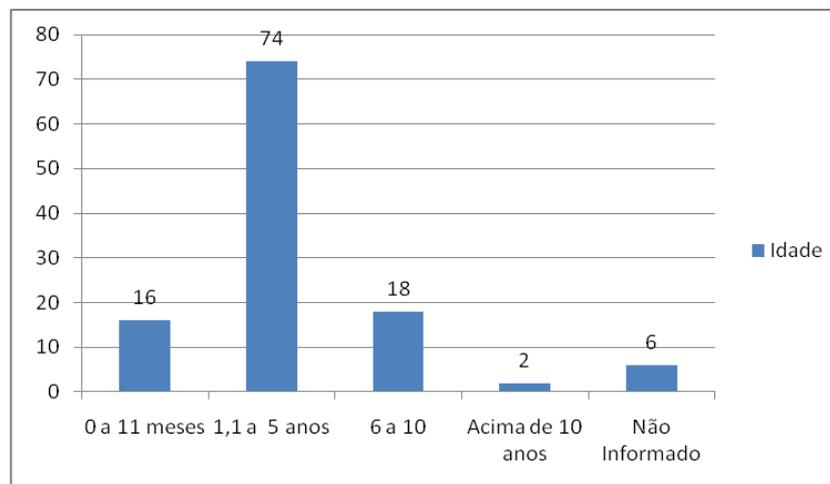
### 5.1.2 INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO E ANÁLISE DE FATOR DE RISCO

O conhecimento sobre os fatores que podem vir a influenciar na ocorrência ou não de doenças é de extrema importância quando se fala em medicina veterinária preventiva, pois a informação sobre a eco epidemiologia de uma determinada região é um fator contribuinte para a prevenção, controle e se possível erradicação de uma doença. Devido a isso, foi realizado um inquérito epidemiológico representado por um questionário respondido pelos proprietários dos animais dos quais foram coletadas amostras de sangue de modo a identificar possíveis fatores de risco à ocorrência de leptospirose canina.

A idade dos animais acometidos variou entre um e cinco anos de idade (63,79%) (fig.18). Resultados parecidos foram encontrados por Silva et al (2006) que encontrou mais de 50% de cães com anticorpos anti-*Leptospira* tinham idade entre

um e cinco anos de idade. Batista et al (2005) verificou que a maior parte dos animais acometidos tinham idade superior a um ano. No entanto Magalhães et al, 2007 e Jouglard & Brod (2000) não observaram relação entre idade e acometimento por leptospirose. Essa maior proporção encontrada no presente estudo pode ser devido ao fato desses animais estarem passando da fase infantil e chegando a fase adulta, período de transição que representa a fase de maturidade e maior atividade sexual. São animais que já estão com seu sistema imune em plena atividade, não tem hábitos curiosos, mas devido ao maior tempo de vida, podem ter em algum momento se infectado com os agentes infecciosos.

Fig. 18 – Faixa etária dos animais acometidos pela leptospirose em Cuiabá, MT



O sexo também é um fator que pode ou não influenciar na frequência ou ocorrência de determinadas doenças. Sendo assim, foi verificado que machos representaram 56,03% (65) enquanto que fêmeas 43,97% (51), havendo, portanto uma predileção por sexo, estando, portanto os machos mais suscetíveis à infecção por *Leptospira* spp. Aguiar et al (2007), encontraram resultados parecidos onde verificou que machos, no ambiente rural, apresentam maiores chances de infecção que as fêmeas. Nesse mesmo estudo não foi observado preferência por sexo no ambiente urbano para a ocorrência de infecção por *Leptospira* assim como Jouglard & Brod (2000), não encontraram predisposição ao sexo. Batista et al (2004), Silva et al (2006) e Magalhães et al (2007) também observaram uma maior predisposição para ocorrência de aglutininas anti-leptospira em machos.

Diversos estudos têm observado que animais sem raça definida são mais propensos a adquirir doenças, no entanto, diversos aspectos devem ser avaliados, como o fato dos proprietários adotarem medidas diferenciais para animais com raça definida e sem raça definida. Este estudo verificou que 61,21% dos casos positivos foram em animais sem raça definida, evidenciando o fato como um fator de risco à ocorrência de leptospirose, provavelmente devido ao modo de criação e não supostamente à uma imunidade natural. No entanto, o resultado vem de encontro ao que Silva et al (2006) pôde verificar em Botucatu, SP, onde animais sem raça definida apresentaram uma taxa de 67,1% e com raça definida 32,9% evidenciando que esses animais têm mais acesso à *Leptospira* sp, fato que também foi confirmado no trabalho de Batista et al (2005) e Magalhães et al (2007) que mostraram que animais sem raça definida são mais propensos a infecção por leptospirose. Deve ser levado em consideração que animais sem raça definida constituem uma grande parcela da população canina e, que grande parte tem acesso livre às ruas, manejo este que geralmente não é permitido quando o animal possui raça definida.

Parte dos cães positivos (56) 48,27%, têm acesso às ruas, no entanto, este trabalho não encontrou relação quanto a este aspecto. Jouglard & Brod (2000) também não verificou relevância estatística como fator de risco o fato do confinamento animal. Isso pode ter ocorrido devido à inconsistência nas respostas do proprietário ao inquérito epidemiológico que foi feito por meio de questionário. Mesmo assim, tal fato não deixa de ser um evento importante, pois contribui para o acesso dos animais a infecções e esse manejo semi-domiciliado pode fazer com que eles tragam para dentro das casas contaminantes que podem ser transmitidos a outros animais e até mesmo para o homem. Silva et al (2006) verificou que animais que tem mais acesso às ruas apresentaram títulos sorológicos maiores em relação aos que não têm esse acesso.

Cerca de 20% dos animais acometidos em Cuiabá, já entraram em contato com outras espécies animal, tal fato é importante quando vai se avalia o sorovar envolvido na reação positiva como, por exemplo, os sorovares Wholfi e Hardjo que são mais comuns em bovinos. No entanto, não foi observado uma relação entre esse contato animal e a ocorrência da leptospirose.

Dentre os animais positivos 69 (59,48%) convivem no mesmo ambiente com outros animais como cães e gatos. Este dado encontra um fator de risco, pois, o fato

de estarem no mesmo ambiente faz com que tenham contato com urina e fezes desses animais, compartilham vasilhames, alimentos, água e, se tratar de macho e fêmea reproduzem-se também, ou seja, compartilham de diversas formas de transmissão (solo, água, ar, fômites e sexual) de doenças. A transmissão é o maior problema no que se refere às doenças infecciosas e o conhecimento da forma como ocorre pode direcionar as ações de controle da doença.

Houve uma porcentagem de 6 (24%) das fêmeas positivas para *Leptospira* spp com histórico de abortamentos e não foi identificado como fator de risco, mas pode se perceber que é uma das manifestações clínicas da leptospirose de grande importância.

Com relação à presença de ratos no ambiente doméstico 78 (67,24%) dos entrevistados disseram já ter observado o roedor no mesmo ambiente dos cães, pois, sabe-se que tais animais são portadores permanentes de *Leptospira* spp, e, segundo Yasuda et al, 1980, esses animais podem levar contaminação ao homem e a outros animais, tendo em vista, principalmente que os ratos são hospedeiros definitivos de leptospirosas, não manifestando a doença e podendo eliminar leptospirosas vivas através da urina durante toda sua vida.

A existência de rio e/ou esgoto no peridomicílio não foi identificado como um fator de risco. No entanto, a existência de terreno baldio nos arredores da casa sim. Em 68,10% (79) dos casos, animais que foram positivos para *Leptospira* sp havia terreno baldio nas proximidades da casa e, em apenas 31,04% (36) não havia. Dado este, de grande relevância, pois nesses locais há acúmulo de lixo e grande oferta de alimento, principalmente para espécies de roedores como *Mus musculus*, que habitam intra-domicílio e saem à noite para se alimentar; ou ainda, existe o fato de que em muitos desses terrenos há depósito de entulhos como madeiras, ferros e restos de materiais de construção que podem servir de abrigo principalmente para a espécie *Rattus rattus* que habita ambiente intra e peri-domiciliar.

Cerca de 25% das ruas pesquisadas ficam alagadas quando chove, esse dado é importante pois sabe-se do papel importante da água na manutenção das leptospirosas e transmissão da doença que ocorre por meio do contato com a água contaminada, no entanto não foi observada como um dos principais fatores de risco nesta pesquisa.

Todos esses fatores são muito importantes tendo em vista que a saúde da população humana e animal são afetados por condições de habitação, de

abastecimento de água, rede de esgoto e coleta de lixo, e também por características do indivíduo, tais como hábito e comportamento. Ko et al (1999) e Sarkar et al (2002) afirmam que a presença de água, lixo e roedores infectados predispõem à ocorrência de casos humanos de leptospirose e conseqüentemente animais.

## 5.2 Brucelose Canina

### 5.2.1 LEVANTAMENTO SOROLÓGICO DE REAÇÃO ANTI-BRUCELLA

Ao realizar o estudo de reação anti-*Brucella* spp observou-se que 21,27% (97) dos cães apresentaram reação anti *Brucella canis*. Quanto à *Brucella abortus* 25% (114) dos animais foram reagentes ao teste de triagem Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e, desses, apenas 6,14% foram reagentes ao teste confirmatório Prova Lenta mais 2-ME. Estudos parecidos como o de Almeida et al (2004) obtiveram freqüências um pouco inferiores: onde 14,2% dos animais foram positivos para a *B. canis*, 18,1% reagiram no teste de triagem para *B. abortus* e, no confirmatório apenas 2,8% foram positivos. Moraes et al (2002) observou uma prevalência de 9,2% para *B. canis* e nenhuma reação para a *B. abortus* ao estudar a zona Oeste da cidade do Rio de Janeiro. Já Marassi et al (2004) ao estudar 497 cães domiciliados em idade reprodutiva no município do Rio de Janeiro encontrou 7,4% de prevalência para a *B. canis*. Vieira et al (2000) ao avaliar a prevalência de cães reagentes à *B. canis* em ambiente rural e urbano no Estado do Rio de Janeiro observou 11,64% de reagentes no ambiente urbano e 7,53% no ambiente rural. Azevedo et al (2003) encontrou 2,2% de prevalência também para a *B. canis* no município de Santana da Parnaíba, SP. Em Salvador, BA, Cavalcanti et al (2006) encontrou um valor de 5,88% de reação anti-*B. canis*. Megid et al (1999) ao avaliar cães com histórico de abortos encontrou uma prevalência que variou de 4,6% a 57,1% de freqüência. No entanto, alguns estudos também encontraram freqüências próximas às encontradas no município de Cuiabá como, por exemplo, o de Maia et al (1999) que ao avaliar a presença de *B. canis* encontrou uma positividade de

25,7% em cães no Município do Rio de Janeiro e Niteroi, esse mesmo estudo não houve reação para a *B. abortus*. Logo, observa-se que os resultados encontrados nesta pesquisa estão dentro dos padrões de inquéritos realizados nos mais diversos locais, visto que a prevalência pode variar de acordo com condições locais, modo de criação, dentre outros.

Tabela 2 – Número e freqüência de animais positivos para *Brucella canis* segundo a região de origem no município de Cuiabá, MT.

REGIÃO	NÚMERO DE ANIMAIS POSITIVOS	FREQUÊNCIA (%)
SUL	51	52,58%
LESTE	16	16,49%
NORTE	06	06,18%
OESTE	24	24,75%
TOTAL	97	100,00%

Conforme tabela 2, evidenciou-se que a brucelose canina está presente em todas as regiões do município.

### 5.2.2 INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO E ANÁLISE DE FATOR DE RISCO

Estudando os resultados obtidos quanto à idade dos animais reagentes à *B. canis* observou-se que 57 (58.76%) dos animais positivos tinham idade entre um e cinco anos de idade. Para a *B. abortus* verificou-se que 100% dos casos tinham mais de um ano de idade, sendo desses, 71,43% (5) com idade entre um e cinco anos (tabela3). Resultados parecidos foram encontrados por Germano et al (1987), Moraes et al (2002), Almeida et al (2004), Cavalcanti et al (2006) onde concluíram que a maior proporção de reagentes à brucelose canina encontra-se na faixa etária compreendida entre 18 e 54 meses (1 ano e meio e 4 anos e meio de idade). Em seu estudo, Azevedo et al (2003) também observou que os casos positivos tinham mais de um ano de idade (77,8%), no entanto, sem significância estatística.

Tabela 3 - Número e frequência de animais positivos para *Brucella canis* e *Brucella abortus* segundo a idade dos animais acometidos.

<b>Idade</b>	<b><i>B. canis</i> (frequência)</b>	<b><i>B. abortus</i> (frequência)</b>
<b>0 - 11 meses</b>	15 (15,47%)	0
<b>1 – 5 anos</b>	57 (58,76%)	5 (71,43%)
<b>6 – 10 anos</b>	18 (18,56%)	2 (28,57%)
<b>Acima de 10 anos</b>	3 (3,09%)	0
<b>Não informado</b>	4 (4,12%)	0

A frequência alta nessa faixa etária pode ser explicada pela maturidade sexual, nesse período é o de maior atividade, maior contato com outros animais devido à idade fazendo com que essa população esteja mais exposta ao risco de infecção. No entanto também deve ser considerado o fato dessa faixa etária corresponder a maior parcela da população, pois, dos 458 animais amostrados, 283 (61,18%) estão compreendidos nessa faixa etária.

Quanto ao sexo, estudos realizados por Germano et al (1987), Azevedo et al (2003), Moraes et al (2002), Almeida et al (2004), Cavalcanti et al (2006), Vasconcellos et al (2008) mostraram que ambos os sexos são igualmente expostos ao risco de infecção por brucelose canina. No presente estudo observou-se (tabela 4) uma diferença pequena entre ocorrência de reação anti-*Brucella canis* entre machos e fêmeas, sendo fêmeas 55,67% e machos 44,33%. Levando em consideração tal resultado pode-se concluir, que fêmeas são mais suscetíveis ao risco de infecção por *B. canis*. Considerando a *B. abortus* foi encontrada uma prevalência de 57% nos machos e 42% nas fêmeas, portanto, para *B. abortus* os machos são mais passíveis de adquirir a doença.

Tabela 4 - Número e frequência de animais positivos para *Brucella canis* e *Brucella abortus* segundo o sexo do animal acometido

<b>Sexo</b>	<b><i>B. canis</i></b>	<b><i>B. abortus</i></b>
<b>Macho</b>	43 (44,33%)	4 (57,14%)
<b>Fêmea</b>	54 (55,67%)	2 (42,85%)

Ao avaliar a raça dos animais positivos (tabela 5) verificou-se que aproximadamente 66% dos cães reagentes à *B. canis* eram sem raça definida (SRD)

e para *B. abortus* cerca de 57% foram reagentes. Pode-se inferir que animais SRD podem estar mais expostos à brucelose canina, tal fato pode ser explicado pelo modo de criação, onde tais animais podem ter acesso facilitado às ruas podendo, portanto, entrar em contato com outros animais infectados, ambientes contaminados, outras espécies animais, enfim tem uma maior probabilidade de, em algum momento contrair a infecção. Outros trabalhos mostraram resultados semelhantes quando não observaram associação expressiva entre raças quanto ao acometimento pela brucelose como é evidenciado nos trabalhos de Azevedo et al (2003) e Almeida et al (2004).

Tabela 5 - Número e freqüência de animais positivos para *Brucella canis* e *Brucella abortus* segundo a raça e manejo dos animais acometidos.

	<b><i>B. canis</i></b>	<b><i>B. abortus</i></b>
<b>Com raça definida</b>	33 (34,02%)	3 (42,85%)
<b>Sem raça definida</b>	64 (65,98%)	4 (57,14%)
<b>Com acesso às ruas</b>	44 (45,36%)	4 (57,14%)
<b>Sem acesso às ruas</b>	53 (54,64%)	3 (42,85%)

Em relação ao manejo dos animais (tabela 5) 45,36% dos positivos para *B. canis* e 57,14% dos positivos para *B. abortus* têm acesso às ruas e, em cerca de 50% esse acesso é livre com bastante freqüência. Não houve diferença com relação ao manejo para a *B. canis*, no entanto para a *B. abortus* evidenciou-se como fator de risco, resultado que vem de encontro ao que Vasconcellos et al (2008) concluem em seu trabalho, no entanto, Azevedo et al (2003) observam que tal fator constitui um evento epidemiológico de risco para a ocorrência da brucelose canina. A diferença pode ser devido ao fato de que foi realizado um inquérito epidemiológico com o preenchimento de formulários respondidos pelo proprietário e, que estes, dependem da veracidade das respostas. Ainda analisando o resultado da *B. canis*, 45% é um percentual relativamente alto, não ficou evidenciado como fator de risco para a brucelose canina causada por *B. canis*, mas esse percentual considerável de animais podem ser veiculadores de diversas outras doenças. Esses animais semidomiciliados podem representar um risco maior que aqueles de vida livre, pois, não têm um contato muito próximo com as pessoas, ou somente em casos de agressão, têm contato com outros animais nas ruas (de vida livre ou não), com

ambientes contaminados, e voltam para casa onde mantêm contato com outros animais e seu próprio dono. O risco de contaminação de diversas doenças infecciosas por esses animais é muito grande e o risco de transmissão ao homem deve ser considerado.

Das fêmeas positivas para *B. canis*, 44% apresentaram histórico de abortamento enquanto que para *B. abortus* nenhuma das fêmeas positivas apresentaram esse histórico. Vasconcellos et al (2008) observaram que 100% das fêmeas com histórico de abortamentos foram soropositivas enquanto 2,6 % das que não tinham histórico foram reagentes. Azevedo et al (2003) observou em seu trabalho uma frequência de histórico de abortamento em fêmeas positivas de 7,4% e, de 1,4% de frequência em fêmeas positivas sem histórico de abortamento no entanto sem associação estatística entre os casos de abortamento e a soropositividade. Almeida et al (2004) observou em 5,5% das fêmeas positivas histórico de abortamento. O percentual relativamente alto encontrado neste trabalho evidencia uma das principais manifestações clínicas da brucelose que é o histórico de abortamento em cadelas infectadas, o baixo valor com relação à *B. abortus* pode ser explicada devido ao número pequeno de animais positivos a tal espécie de *Brucella* (3 fêmeas).

Ao analisar o local do qual provinham os animais positivos para *B. abortus* no teste confirmatório pôde-se verificar que 71,43% (5) provinham da região Leste do município e 28,57 (2) da região Sul. Nas demais regiões, Norte e Oeste, nenhum animal foi positivo. A região Sul foi a que apresentou a mais alta proporção de cães que entraram em contato com outra espécie animal, seguida da região Norte, Oeste e Leste que aparece somente na última posição contrariando os resultados pois a região Leste foi a que apresentou maior número de animais reagentes à *B. abortus*.

Ao avaliar cada animal separadamente foi observado que dois dos cinco animais reagentes já entraram em contato com outras espécies animal, indicando uma probabilidade de ter sido esse contato a razão de apresentarem positivos à *B. abortus* e os outros três animais sem histórico de infertilidade (no caso de machos), nem de aborto (fêmeas) e sem contato com outras espécies animal. Dos três, apenas um teve acesso livre às ruas, o que pode indicar que foi este o motivo para o animal ter entrado em contato com a bactéria, no entanto os outros dois animais não apresentam a razão sobre a possível forma de infecção.

Aspectos também observados na região Sul onde dos dois animais positivos, nenhum entrou em contato com outra espécie animal, não apresentaram histórico de aborto ou infertilidade, apenas um teve acesso às ruas. Mas todos, tanto da região leste como da sul convivem com outros animais. Isso deixa uma lacuna, pois pode ser que o animal estudado não tenha acesso às ruas e os outros que convivem no mesmo ambiente tenham e assim corroboram com a transmissão da doença. O contato com diferentes espécies animais é um fator epidemiológico importante devido à possibilidade de veiculação de infecções comuns a outras espécies, expondo o cão a tornar-se hospedeiro acidental de doenças como a brucelose canina.

Ao avaliar a região acometida pela *B. canis*, foi observado um maior número de cães provenientes da região Sul, mais de 50%, seguido da Oeste, Leste e Norte (tab.2). Proporcionalmente também foi a região Sul com mais casos de aborto (41,18%), seguido da leste (17,39%), oeste (16,67%) e norte (16,13%).

Nessa região também foi observado que a maioria dos entrevistados possui o segundo grau completo ou incompleto (41,43%), seguido da Oeste (39,56%), Leste (37,04%) e Norte (28,93%). As mesmas proporções que foram verificadas o número de casos. Na região Norte a maior parte da população entrevistada possui nível fundamental ou inferior (54,54%) e a região Sul é a região que menos apresenta pessoas com nível fundamental ou inferior de educação (30,71%). A região leste é a que mais apresenta população com nível superior de educação (25,93%) seguido da oeste (24,17%), sul (12,14%) e norte (9,92%).

O fato da região Norte não apresentar casos de brucelose canina causada por *B. abortus* e, para *B. canis* ocorrer com menor número de casos pode ser devido ao nível de instrução inferior da maioria dos entrevistados nestas regiões pois, estes permanecem mais tempo em casa e, talvez possam dar uma atenção maior aos seus animais e evitar que eles saiam às ruas e se exponham à infecção.

## 6 CONCLUSÕES

No município de Cuiabá existe uma gama de fatores predisponentes favorecendo a ocorrência de leptospirose e/ou brucelose canina tais como convivência de cães com outros animais no mesmo ambiente, presença de roedores no ambiente doméstico, existência de terrenos baldios nos arredores da casa, casos de abortamentos em fêmeas, acesso às ruas, contato com outras espécies animais. Esses fatores são importantes ao estudar não só a leptospirose e a brucelose canina como também outras doenças transmissíveis. Foi verificado 25,32% de aglutininas anti-*Leptospira* e da reação anti-*Brucella* spp 21,27% para a *B. canis* e 6,14% para a *B. abortus*. Além disso, alguns fatores de risco foram detectados para a ocorrência da leptospirose canina como a raça do animal sendo que, dos positivos 61,21% eram sem raça definida; a idade pois 63,79% dos animais positivos tinham idade entre 1 e 5 anos e a presença de ratos no ambiente doméstico encontrado em 67,24% das casas com animais positivos. Avaliou-se também os fatores de risco para a brucelose canina como idade sendo a faixa etária de 1 a 5 anos a mais acometida; o sexo sendo machos mais acometidos em se tratando de *B. abortus* e fêmeas quando se trata de *B. canis*; a raça também se mostrou como um risco potencial pois animais sem raça definida obtiveram um maior percentual de ocorrência quanto à brucelose canina e a região de origem do animal. Essas duas zoonoses ainda não haviam sido estudadas quanto à ocorrência ou prevalência no município e por se tratar de doenças graves com risco potencial de transmissão ao homem, os resultados encontrados nesse trabalho pioneiro é de extrema importância e com grande impacto para saúde pública contribuindo para adoção de medidas profiláticas específicas.

Através destes resultados ressalta-se a importância da realização de estudos como este, os quais têm o objetivo de verificar os sorovares mais prevalentes na região, haja vista que não existe imunidade cruzada entre os sorovares, para que, dessa forma, possa haver contribuição com a formulação de vacinas realmente específicas para a proteção da população animal e, conseqüentemente humana de acordo com a realidade local.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sendo a leptospirose e a brucelose doenças que podem acometer tanto animais domésticos e silvestres como o homem, este trabalho visou encontrar as doenças na população canina, pois estas podem representar um risco potencial de transmissão ao homem e muitas vezes sendo desconhecidas pela população em geral e pouco enfatizadas pelos profissionais da área de saúde para que, desta forma, pudessem ser traçados trabalhos de educação em saúde com a população sobre a ocorrência das doenças, formas de transmissão, potenciais transmissores e métodos de prevenção. Com os resultados obtidos, pode-se concluir que há necessidade de se despertar a consciência para o risco potencial representado pelos animais de companhia em transmitir essas doenças ao seu dono, principalmente ao considerar o fato de que a maioria dos animais podem se apresentar assintomáticos. Portanto, transmitir conhecimento à população sobre a importância da posse responsável dos animais domésticos diminuiria muitas possibilidades de transmissão das zoonoses ao homem, pois, o cuidado com o aspecto sanitário e o modo de criação domiciliado diminuiria o risco de infecção por essas doenças transmissíveis e, conseqüentemente evitar e ou prevenir a transmissão a outros animais e ao próprio homem.

## 8 REFERÊNCIAS

ACHA, P.N. & SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales brucellosis. 3ed. Washington: **OPS/OMS**, p.28-56, 2001.

AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; CAMARGO, L.M.A.; LABRUNA, M.B.; VASCONCELLOS, S.A.; SOUZA, G.O.; GENNARI, S.M. Anti-*Leptospira* spp and anti-*Brucella* spp antibodies in humans from rural area of Monte Negro municipality, state of Rondônia, Brazilian Western Amazon. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, n.1, 2007.

AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; VASCONCELLOS, S.A.; MEGID, J.; SALGADO, V.R.; CRUZ, T.F.; LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; DA SILVA, J.C.R.; MORAES, Z.M.; CAMARGO, L.M.A.; GENNARI, S.M. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella canis* e anti- *Brucella abortus* em cães rurais e urbanos do município de Monte Negro, Rondônia, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n.5, p.1216-1219, 2005.

ALMEIDA, A.C.; SANTORELLI, A.; BRUZADELLI, R.M.Z.; OLIVEIRA, M.M.N.F. Soroepidemiologia da brucelose 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.

ALVES, C.J.; ANDRADE, J.S.L.; VASCONCELLOS, S.A. et al. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-leptospira em cães no município de Patos-PB, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.7, p.17-21, 2000.

AVILA, M.O.; FURTADO, L.R.I.; TEIXEIRA, M.M.; ROSADO, R.L.I.; MARTINS, L.F.S.; BROD, C.S. Aglutininas Anti-Leptospíricas em Cães na Área de influência do Centro de Controle de Zoonoses, Pelotas, RS, Brasil, no ano de 1995, **Ciência rural**, v.28, n.1, 1998.

AZEVEDO, S.S.; VASCONCELLOS, S.A.; KEID, L.B.; GRASSO, L.M.P.S.; PINHEIRO, S.R.; MASCOLLI, R.; ALVES, C.J. Comparação de três testes sorológicos aplicados ao diagnóstico da infecção de caninos por *Brucella canis*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.41, p.106-112, 2004.

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

BAEK, B.K.; LIM, C.W.; RAHMAN, M.S.; HYUN KIM, C.; OLUOCH, A.; KAKOMA, I. *Brucella abortus* infection in indigenous Korean dogs. The **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.67, p. 312-314, 2003.

BAL, A.E.; GRAVEKAMP, C.; HARTSKEERL, R.A.; MEZA-BREWSTER, J.; KORVER, H.; TERPSTRA, W.J. Detection of leptospires in urine by PCR for early diagnosis of leptospirosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v.32, n.8, p.1894-1898, 1994.

BATISTA, C.S.A.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; CLEMENTINO, I.J.; ALVES, F.A.L.; LIMA, F.S.; ARAUJO NETO, J.O. Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, supl. 2, p.179-185, 2005.

BATISTA, C.S.A.; AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; CLEMENTINO, I.J.; LIMA, F.S.; NETO, J.O.A. Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, V. 41, P.131-136, 2004.

BHARTI, A.R.; NALLY, J.E.; RICARDI, J.N.; MATHIAS, M.A.; DIAZ, M.M.; LOVETT, M.A.; LEVETT, P.N.; GILMAN, R.H.; WILLIA, M.R.; GOTUZZO, E.; VINETZ, J.M. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Lancet Infectious Disease**, v.3, n.12, p.757-771, 2003.

BLAZIUS, R.D.; ROMÃO, P.R.T.; BLAZIUS, E.M.C.G.; SILVA, O.S. Ocorrência de cães errantes soropositivos para *Leptospira* spp. na Cidade de Itapema, Santa Catarina, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v.21, n.6, 2005.

BOSU, W.T.K. & PRESCOTT, J.F. A serological survey of dogs for *Brucella canis* in southwestern Ontario. **Canadian Veterinary Journal**, v.21, p.198-200, 1980.

BOLIN, C.A. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. **Semin Veterinary Medicine Surg (Small Animal)**, v.11, p.166-171, 1996.

BRANDESPIM, D. F.; MAGAJEVISKI, F.S.; GIRIO, R. S. J.; LOPES, F. L.; NUMBERGUER JUNIOR, R.; ALESSI, A.C. Avaliação das técnicas de Levaditti e imunohistoquímica na detecção de *Leptospira interrogans* sorovar Pomona em órgãos reprodutores de hamsters machos infectados experimentalmente. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 28, n.3, p. 177-183, 2004.

BRASIL. Guia de Vigilância Epidemiológica / Fundação Nacional de Saúde. 5. ed. Brasília: **FUNASA**, vol.II, p.543-556, 2002.

BRASIL. Doenças infecciosas e parasitárias/ Guia de bolso. 6.ed. revisada. Brasília: **Ministério da Saúde**, 2006, p.65-67.

BRASIL. Manual de Leptospirose. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais. Programa Nacional de Leptospirose. 2. ed. ver. Brasília: **Fundação Nacional de Saúde**, 1995.

BRENNER, D.J.; KAUFMANN, A.F.; SULZER, K.R.; STEIGERWALT; A.G.; ROGERS, F.C.; WEYANT, R.S. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family *Leptospiraceae* with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira* genomospecies. **Internacional Journal Syst Bacteriology**, v. 49, p. 839–58,1999.

BROWN, K. & PRESCOTT, J. Leptospirosis in the family dog: a public health perspective. **Canadian Medical Association or its licensors**, v.178, n.4, p.399-401, 2008.

BROWN, C.A.; ROBERTS, A.W.; MILLER, M.A.; DAVIS, D.A.; BROWN, S.A.; BOLIN, C.A.; JARECKI-BLACK, J.; GREENE, C.E.; MILLER-LIEBL, D. *Leptospira interrogans* serovar grippotyphosa infection in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.209, n.7, p.1265—1267, 1996.

BROD, C.S.; ALEIXO, J.A.G.; JOUGLARD, S.D.D.; FERNANDES, C.P.H.; TEIXEIRA, J.L.R.; DELLAGOSTIN, O.A. Evidência do cão como reservatório da leptospirose humana: isolamento de um sorovar, caracterização molecular e utilização em inquérito sorológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.38, n.4, p.294-300, 2005.

BUNNELL J.E., HICE C.L., WATTS D.M., MONTRUEIL V., TESH R.B., VINETZ J.M. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. infections among mammals captured in the Peruvian Amazon basin region. **Am J Trop Med Hyg**, v.63, p.255–258, 2000.

CACHAY, E.R. & VINETZ, J.M.; A Global Research Agenda for Leptospirosis. **Journal Postgrad Medicine**, v.51, n.3, p.174-178, 2005.

CARMICHAEL, L.E. Brucelosis canina causada por *B. canis*: enfermidade clínica; problemas em imunodiagnóstico. **Revista de Medicina Veterinária**, v.80, n.2, p.102-106, 1998.

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

CASAS OLASCOAGA, R. Diagnóstico Serológico de La Brucelosis. **Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS**, v.18, p.107-141, 1976.

CAVALCANTI, L.A.; DASSO, M.G.; OLIVEIRA, F.C.S.; VIEGAS, S.A.R.A.; ALMEIDA, M.G.A.R.; ANUNCIAÇÃO, A.V.M.; ALCANTARA, 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 e Produção Animal**, v.7, n.2, p.176-180, 2006.

COHEN, J. & POWDERLY, W.G. Infections from pets. In: **Infectious Diseases**. 2<sup>nd</sup> ed, London: Mosby, p.971, 2004.

CORBEL, M.J. Brucelosis in humans and animals. Produzido pela Organização Mundial de Saúde em colaboração com a Organização das Nações Unidas de agricultura e alimentação e Organização Mundial de Saúde Animal, 2006.

FAINE, S. *Leptospira* and Leptospirosis. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1994, p. 215-228.

FARR, R.W. Leptospirosis. **Clinical Infectious Disease**, v.21, p.1-20, 1995.

FIGUEIREDO, A.O.; PELLEGRIN, A.O.; GONÇALVES, V.S.P.; FREITAS, E.B.; MONTEIRO, L.A.R.C.; OLIVEIRA, J.M.; OSÓRIO, A.L.A.R. Prevalência e fatores de risco para leptospirose em bovinos de Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.5, p.375-381, 2009.

FILHO, M. M. Indução do estado de portador renal e genital pela *Leptospira interrogans* sorovar Canicola, estirpe LO4, em hamster (*Mesocricetus auratus*). Influência da concentração, da virulência, da estirpe, da via de inoculação e da vacinação, São Paulo, 2007. (Tese de doutorado – Universidade de São Paulo).

FLORES-CASTRO, R. & SEGURA, R. A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in México. **Cornell Vet**, v.66, p.347-352, 1976.

FOSTER, G., OSTERMAN, B.S.; GODFROID, J.; JACQUES, I.; CLOECKAERT, A. *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. **Int Journal Syst Evol Microbiology**, v. 57, p. 2688-2693, 2007.

FRAZER, C.M. **Manual Merck de Veterinária**. 6.ed. São Paulo: ROCA, 1991. p.413.  
FURTADO LRI, ÁVILA MO, FEHLBERG MFB, TEIXEIRA MM, ROSADO RLI, MARTINS LFS. Prevalência e avaliação de fatores de risco à leptospirose canina no Município de Pelotas-RS. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.64, p.57-61. 1997

FURTADO, L.R.I.; ÁVILA, M.O.; FEHLBERG, M.F.B.; TEIXEIRA, M.M.; ROSADO, R.L.I.; MARTINS, L.F.S.; et al. Prevalência e avaliação de fatores de risco à leptospirose canina no Município de Pelotas-RS. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.64, p.57-61. 1997

GARCIA, M. MARTINS. L.S. Leptospirose. Disponível:  
[http://www.mgar.com.br/zoonoses/aulas/aula\\_leptospirose.htm](http://www.mgar.com.br/zoonoses/aulas/aula_leptospirose.htm) Acesso em:  
15/10/2008.

GEISEN, V.; STENGEL, C.; BREM, S.; MULLER, W.; GREENE, C.; HARTMANN, K. Canine leptospirosis infections – clinical signs and outcome with different suspected *Leptospira* serogroups (42 cases). **Journal of Small Animal Practice**, v.48, n.6, p.324-328, 2007.

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 da Universidade de São Paulo, v.24, n.1, p.27-34, 1987.

GOMES, M.J.P. *Leptospira* spp. Microbiologia Clínica/ LABACEVET 2007- II. Disponível: <http://www.ufrgs.br/labacvet/pdf/lepto.pdf> Acessado em: 11/10/2008.

GODOY, A. M. ; PERES, J. N. ; BARG, L. Isolamento de *Brucella canis* em Minas Gerais, Brasil. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, v. 29, p.35-42,1977.

GREENE, C.E.; MILLER, M.A.; BROWN, C.A. Leptospirosis. In: GREENE, C.E. **Infectious diseases of dog and cat**. 2ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p.273-281.

HARKIN, K.R. & GARTRELL, C.L. Canine Leptospirosis in New Jersey and Michigan: 17 cases (1990-1995). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.32, p.495-501, 1996.

HARTMAN E.G. Epidemiological aspects of canine leptospirosis in the Netherlands. **Zentralbl Bakteriol Hyg** 1984; 258: 350-359.

HENDERSON, R.A.; HOERLIN, B.F.; KRAMER, T.T.; MEYER, M.E. Discospondylitis in three dogs infected with *Brucella canis*. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.165, p.451-455, 1974.

HEYMAN, D.L. editor. Control of communicable disease manual. 18 ed. Washington: **American Public Health Association**, 2004.

HOLLETT, R.B. Canine brucellosis: Outbreaks and compliance. **Theriogenol.**, v.66, p.575-587, 2006.

HUBBERT, N.L.; BECH-NIELSEN, S.; BARTA, O. Canine brucellosis: comparacion of clinical manifestations with serologic test results. **Jounal American Veterinary Medical Association**, v.177, p.168-171, 1980.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Estimativas de população para 1º de julho de 2006, publicada no DOU nº 168, de 31/08/2006, seção 1, Resolução PR nº 2, de 28/08/2006 – páginas 137 à 159

IRIBARREN, F.; BREGLIA, J.; CASTILLO, M.; ESCOBAR, V.; HOFFMAN, F. Comparación de las pruebas de inmunodifusión Del gel de Agar con antígeno de *Brucella ovis* y de aglutinación em placa com *Brucella canis* M(-) para El diagnostico de La brucelosis canina. **Veterinária Argentina**, v.16, n.152, p.146-151, 1999.

JOHNSON, C.A. & WALKER, R.D. Clinical Signs and Diagnosis of *Brucella canis* Infection. **The Compendium - Small Animal**, v.14, n.6, p. 763-772, 1992.

JOUGLARD, S.D.D. & BROD, C.S. Leptospirose em cães: prevalência e fatores de risco no meio rural do município de Pelotas, RS. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.67, n.2, p.181-185, 2000.

KALIN, M.; DEVAUX, C.; DIFRUSCIA, R.; LEMAY, S.; HIGGINS, R. Three cases of canine leptospirosis in Quebec. **Canine Veterinary Journal**, v. 40 p. 187-191, 1999.

KMETY, E. & DICKEN, H. Classification of the species *Leptospira interrogans* and history of its serovars (Griningen, The Netherlands: University Press). 1993

KOIZUMI, N. & WATANABE, H. Leptospirosis vaccines: Past, present and future. **Journal Postgrad Med**, v.51, p.210-214, 2005.

KO A.I., GALVAO RM, RIBEIRO DC, JOHNSON WD Jr, RILEY LW. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. Salvador Leptospirosis Study Group. **Lancet**, v.354, p.820–825. 1999

LANGSTON, C.E. & HEUTER, K.J. Leptospirosis: a reemerging zoonotic disease. Emerging and Reemerging Infectious Diseases. **Veterinary Clinics of North American Small Animal Practice**, v.33, p.791-807, 2004.

LARSSON, M.H.M.A. Pesquisa de aglutininas anti *Brucella canis* em soros humanos na cidade de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 14, p. 404-407, 1980.

LARSSON, M.H.M.A.. & COSTA, E.O. Isolation of *Brucella canis* . In. **Journal Zoonosis**, v.7, n.2, p.125-130, 1980.

LEVETT, P.N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Review**, v.14, p.296-326, 2001.

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 NITEROI-RJ. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.425-427, 1999.

MAGALHAES, D.F.; SILVA, J.A.; MOREIRA, E.C.; WILKE, V.M.L.; NUNES, A.B.V.; HADDAD, J.P.A.; MENESES, J.N.C. Perfil dos cães sororreagentes para aglutininas anti- *Leptospira interrogans* em Belo Horizonte, Minas Gerais, 2001/2002. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1326-1329, 2007.

MALEK DOS REIS, C.B.; HOFFMANN, R.C.; SANTOS, R.S.; TURRI, R.J.G.; ORIANI, M.R.G. Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella canis* e anti- *Brucella abortus* em cães errantes da cidade de São João da Boa Vista, Estado de São Paulo, Brasil (2002-2003). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.45, n.1, p. 32-34, 2008.

MARASSI, C.D.; MORAES, I.A.; LILENBAUM, W. Comparação entre antígenos de *B.canis* e de *B.ovis* para o diagnóstico da Brucelose Canina em testes de Imunodifusão em Gel-Agarose. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 28, n. 2, p. 103-107, 2004.

MARTINS, L. S. Situação epidemiológica da leptospirose bovina, canina e humana na área rural do município de Pirassununga, São Paulo. 2005. (Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo).

MASCOLLI, R. et al. Inquérito sorológico para leptospirose em cães do município de Santana de Parnaíba, São Paulo, utilizando a Campanha de Vacinação Anti-rábica do ano de 1999. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.69, n.2, p.25-32, 2002.

MATHIAS MA, DIAZ MM, CAMPOS KJ, CALDERON M, WILLIG MR, Pacheco V, et al. Diversity of bat associated *Leptospira* in the Peruvian Amazon inferred by Bayesian phylogenetic analysis of 16S ribosomal DNA sequences. **Am Journal Tropical Med Hyg**. 2005

MEEUSEN, E.N.T.; WALKER, J.; PETERS, A.; PASTORET, P.P.; JUNGENSEN, G. Current Status of Veterinary Vaccines. **Clinical Microbiology Rev**, v.20, n.3, p.489-510, 2007.

MEGID, J.; BRITO, 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, 1999.

MERIEN, F.; AMOURIAUX, P.; PEROLAT, P.; BARANTON, G.; SAINT GIRONS, I. Polymerase chain reaction for detection of *Leptospira* spp in clinical samples. **Journal of Clinical Microbiology**, v.30, p.2219-2224, 1992.

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**, 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 Ciência Veterinária**, v. 9, n. 3, p. 154-157, 2002.

MORENO, E. & MORIYN, I. The Genus *Brucella*. *Prokaryotes*, v.5, p.315-456, 2006.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina Interna de Pequenos Animas**. 2.ed. Rio de Janeiro: EDITORA GUANABARA KOOGAN S.A, p.1002-1003, 2001.

PALANIAPPAN, R.U.; RAMANUJAM, S.; CHANG, Y.F. Leptospirosis: pathogenesis, immunity, and diagnosis. **Curr Opin Infectious Disease**, v.20, p. 284-292, 2007.

PATARAKUL, K.; LO, M.; ADLER, B. Global transcriptomic response of *Leptospira interrogans* serovar *Copenhageni* upon exposure to serum. **Bio Medical Central Microbiology**, 2010.

PICKERING, L.K; RED BOOK, 2006. Report of the committee on Infections Diseases. Elk Grove Village: **American Academic of Pediatrics**, 2006.

PRESCOTT J.F.; FERRIER RL, NICOLSON VM, et al. Is canine leptospirosis under diagnosed in southern Ontario? A case report and serological survey. **Canadian Veterinary Journal**, v.32, p. 481-486,1991.

PRESCOTT, J.F.; MCEWEN, B.; TAYLOR, J. et al. Resurgence of leptospirosis in dogs in Ontario: recent findings. **Canadian Veterinary Journal**, v.43, p.955-961, 2002.

RANDHAWA, A.S.; DIETERICH, W.H.; HUNTER, C.C.; KELLY, V.P.; JOHNSON, T.C.; SVOBODA, B.; WILSON, D.F. Prevalence of seropositive reactions to *Brucella canis* in a limited survey of domestic cats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.171, n.3, p.267-268, 1977.

RENTKO V.T., CLARK N., ROSS L.A., et al. Canine leptospirosis: A retrospective study of 17 cases. **Journal Veterinary Internecional Medical**; 6: 235-244, 1992.

SAEGUSA, J.; UEDA, K.; GOTO, Y.; FUJIWARA, K. A survey of *Brucella canis* infection in dogs from Tokio Area. Jap. **Journal Veterinary Science**, v.40, p.75-80, 1978.

SANTA ROSA, C. A. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, v.1, p.97-109,1970.

SARKAR, U.; NASCIMENTO, S. F.; BARBOSA, R.; MARTINS, R.; NUEVO, H.; KALAFANOS, I.; GRUNSTEIN, I.; FLANNERY, B.; DIAS, J.; RILEY, L. W.; REIS, M. G.; KO, A. I. Population-based case-control investigation of risk factors for leptospirosis during an urban epidemic. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 66, n. 5, p. 605-610, 2002.

SCANZIANI E.; CALCATERRA S.; TAGLIABUE et al. Serologic findings in cases of acute leptospirosis in the dog. *Journal Small Animal Pract* 1994; 35: 257-260.

SILVA, R.F. & RIEDMANN, S. Seroprevalencia de leptospirosis canina en perros atendidos en clínicas veterinarias, mediante aglutinación microscópica y comparación con las técnicas de aislamiento e inmunofluorescencia indirecta. **Archives Medical Veterinary**, v.39, n.3, 2007.

SCHOLZ ,H.C.; HUBALEK, Z.; SEDLA ek I.; VERGNAUD, G.; TOMASO H.; AI DAHOUK, S.; MELZER, F.; KAMPFER, P.; NEUBAUER, H.; CLOECKAERT, A.; MAQUART, M.; ZYGMUNT, M.S.; WHATMORE, A.M.; FALSEN, E.; BAHN, P.; GÖLLNER, C.; PFEFFER, M.B.; HUBER, B., BUSSE, H.; NÖCKLER, K. *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. **Int Journal Syst Evol Microbiology**, v. 58, p. 375-382, 2008.

SILVA, W.B.; SIMOES, L.B.; LOPES, A.L.S.; PADOVANI, C.R.; LANGONI, H.; MODOLO, J.R. Avaliação de fatores de risco de cães sororreagentes à *leptospira* spp e sua distribuição espacial, em área territorial urbana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.43, n.6, p.783-792, 2006.

SILVA, F.G.; FREITAS, J.C.; ANZAI, E. K.; HASHIMOTO, V.Y.; GIRALDI, N.; DELBEM, A.C.; BRACARENSE, A. P. F. R.. L.; REIS, A. C. F.; VASCONCELLOS, S. A. Leptospire detection in Kidney, liver and uterus of cows slaughtered in Paraná state, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 36, p. 38-42. , 2005

SRIVASTAVA, S.K. Prospects of developing leptospiral vaccines for animals. **Indian Journal Med Microbiology**, v. 24, p.331-336, 2006.

TEIXEIRA, M.A.; GONÇALVES, M.L.L.; RIEDIGER, I.N.; PROSSER, C.S.; SILVA, S.F.C.; BIESDORF, S.M.; MOSKO, P.R.E.; MORAIS, H.A.; BIONDO, A.W. Sorologia Negativa e PCR positiva: a importância da biologia molecular para o diagnóstico de leptospirose aguda em um cão. **Clínica Veterinária**, n.73, p.44-48, 2008.

TRUEBA, G.; ZAPATA, S.; MADRID, K.; CULLEN, P.; HAAKE, D. Cell aggregation: mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. **Int Microbiol**, v.7, p.35-40, 2004.

VASCONCELLOS, S.A.; ITO, F.H.; CORTES, J.A. Bases para a prevenção da brucelose animal. Comunicação Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, v.11, n.1, p.25-36, 1987.

VASCONCELLOS, 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 na cidade de Campina Grande, Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Saúde e Produção animal**, v.9, n.3, p.436-442, 2008.

VERONESI, R.; AMATO NETO, V.; CORRÊA, M.O.A. Considerações em torno de um novo caso humano de febre canícola. **O hospital**, v.46, p.69-79, 1954.

VIEIRA, D.K.; Moraes, I.A.; Rossi, C.R.S.; Ramos, M.L.M.; Barreto, L.S. Identificação de cães reagentes à *Brucella canis* nos ambientes rural e urbano no Estado do Rio De Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária** . V.7-supl, p.123. 2000.

VIJAYACHARI, P.; SUGUNAN, A.P.; SHRIRAN, A.N. Leptospirosis: an emerging global public health problem. **Journal Bioscience**, v.33, n.4, p.557-569, 2008.

VINETZ JM, GLASS GE, FLEXNER CE, MUELLER P, KASLOW DC. Sporadic urban leptospirosis. **Ann Intern Med**, v.125, p. 794–798, 1996.

VINETZ, J.M. Leptospirosis. **Curr Opin Infectious Diseases**, v.14, p.527-538, 2001.

WANG, Z.; JIN, L.; WEGRZYN, A. Review Leptospirosis vaccines. **Microbiol cell Factories**, 6:39, 2007.

WARD, M.P.; GLICKMAN, L.T.; GUPTILL, L.F. Prevalence of and risk factors for leptospirosis among dogs in the United States and Canada: 677 cases (1970-1998). **Journal Am Vet Med Assoc**, v.220, p.53-58, 2002.

WOHI, J.S. Canine leptospirosis. **Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian – Small Animal**, v. 18, p. 1215-1225, 1996.

YASUDA, P.H.; SANTA ROSA, C. A.; YANAGUITA, R. M. Variação sazonal na prevalência de leptospirose em cães de rua da cidade de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, vol.14 n.4, São Paulo, 1980.

**ANEXOS**

## Anexo I

QUESTIONÁRIO

NQ: \_\_\_\_\_

Dados do entrevistado

1. Nome:

2. Endereço:

Bairro:

3. Idade:

4. Escolaridade:

5. Ocupação:

Telefones:

Dados do animal

6. Nome:

7. Idade:

8. Raça:

9. Sexo: ( )M ( )F

10. Vacinas: ( ) Raiva ( ) Tríplice ( ) Ócupla

11. Número de doses: ( ) Raiva ( ) Tríplice ( ) Ócupla

12. Convive com outros animais? ( ) Sim ( ) Não

13. Quais e quantos? \_\_\_\_\_

14. Saem às ruas? ( ) Sim ( ) Não

15. Se saem é freqüente? ( ) Sim ( ) Não

16. Já foi observado a presença de rato no ambiente? ( ) Sim ( ) Não

17. Seu animal já entrou em contato com outros animais? ( ) Sim ( ) Não Ex: Boi, cavalo, porco

18. Alimentação: ( ) Ração ( ) Comida ( ) Comida + Ração

Para Fêmea:

19. Já cruzou? ( ) Sim ( ) Não

20. Já ficou prenhe? ( ) Sim ( ) Não

21. Já teve casos de aborto? ( ) Sim ( ) Não

Para macho:

22. Já realizou a monta (cruzou)? ( ) Sim ( ) Não

23. A fêmea chegou a ficar prenhe? ( ) Sim ( ) Não

24. Se ficou, chegou a conceber os filhotes? ( ) Sim ( ) Não

Ambiente:

25. Coleta de lixo: ( ) Sim ( ) Não Se sim: Quantas vezes na semana: \_\_\_\_\_

26. Armazenamento do lixo:

( ) Sacolas ( ) Vasilhames ( ) Calçada ( ) Distante do chão

27. Esgoto a céu aberto nas proximidades: ( ) Sim ( ) Não

28. Existe algum córrego ou rio próximo? ( ) Sim ( ) Não

29. Terreno baldio nas proximidades: ( ) Sim ( ) Não

30. Casa: ( ) Murada ( ) Sem muro ( ) Com cerca

31. Rua asfaltada? ( ) Sim ( ) Não

32. Quando chove as ruas ficam alagadas? ( ) Sim ( ) Não

Eu, \_\_\_\_\_  
portador do CPF \_\_\_\_\_, proprietário do animal  
\_\_\_\_\_, raça \_\_\_\_\_, idade \_\_\_\_\_,  
pelagem \_\_\_\_\_ autorizo a coleta de sangue do meu animal para fins de  
pesquisa. Estou ciente que o volume utilizado não implicará em nenhum dano à saúde do meu  
animal.

Cuiabá, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Assinatura

## APÊNDICE

# SOROPREVALÊNCIA DE REAÇÃO ANTI-BRUCELLA EM CÃES NO MUNICÍPIO DE CUIABÁ, MATO GROSSO, BRASIL

## SEROPREVALENCE OF REACTION ANTI-*BRUCELLA* IN DOGS IN THE MUNICIPALITY OF CUIABA, MATO GROSSO, BRAZIL

SILVA, G.C.P.<sup>1\*</sup>; VALERIANO, S.P.<sup>2</sup>; GIRARDI, P.A.<sup>3</sup>; ASSIS, N.A.<sup>4</sup>; BLANQUENHEIN, T.M.<sup>5</sup>; NOCITI, D.L.P.<sup>6</sup>

\* Bolsistas pela Fundação de Amparo à Pesquisa de Mato Grosso (FAPEMAT) convênio FAPEMAT/CAPES

1 e 2 Alunas do programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) [glaucenyracecilia@gmail.com](mailto:glaucenyracecilia@gmail.com)

3 Aluno de graduação da Universidade de Cuiabá (UNIC)

4 Agente de Suporte Acadêmico da Universidade do Estadual de São Paulo Campus Jaboticabal (UNESP/JABOTICABAL)

5 Bolsista de Treinamento técnico da Universidade Estadual de São Paulo Campus Jaboticabal (UNESP/JABOTICABAL)

6 Professora Doutora da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) - Orientadora

### RESUMO

A brucelose é uma importante zoonose que afeta tanto o homem como os animais domésticos em todo mundo. Neste trabalho foram estudados 458 cães do município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil quanto à prevalência de reação anti-brucella bem como os fatores de risco associados à soropositividade para *B. canis* e *Brucella abortus*. O plano amostral utilizado foi feito através de amostragem estratificada, pois a população total foi dividida em subpopulações (norte, sul, leste e oeste) de modo a melhorar a acurácia da amostra. Para a *Brucella abortus* o teste sorológico de triagem utilizado foi o AAT e o Teste confirmatório para as amostras positivas no AAT foram a Soroaglutinação Lenta em Tubos e 2 mercaptoetanol. Para a *Brucella canis*, o IDGA. A prevalência de reação anti- *Brucella canis* foi de 21,27% e a prevalência de reação anti- *Brucella abortus* foi de 6,14%. Os dados obtidos num

inquérito epidemiológico representado por um questionário respondido pelo proprietário no momento da coleta demonstrou que os fatores de risco associados à brucelose canina foram a idade entre um e cinco anos, cães sem raça definida (SRD).

**Palavras Chave: brucelose, zoonose, cão**

## **ABSTRACT**

Brucellosis is an important zoonosis that affects both man and domestic animals worldwide. In this study 458 dogs in the city of Cuiaba, Mato Grosso, Brazil on the prevalence of anti-brucella reaction and the risk factors associated with seropositivity for *B. canis* and *Brucella abortus*. The sampling plan used was done using stratified sampling, because the population was divided into subpopulations (north, south, east and west) to improve the accuracy of the sample. *Brucella abortus* for serological testing for screening utilizado was the AAT and the confirmatory test for positive samples in the AAT were the tube agglutination and 2 mercaptoethanol. To *Brucella canis*, AGID. The prevalence of anti-*Brucella canis* reaction was 21.27% and the prevalence of anti-*Brucella abortus* reaction was 6.14%. The data obtained in an epidemiological survey represented by a questionnaire answered by the owner at collection showed that the risk factors associated with canine brucellosis were aged between one and five years, mongrel dogs (SRD).

Keywords: brucellosis, zoonosis, dog

## INTRODUÇÃO

O estudo da população canina visa o conhecimento do potencial desempenhado por estes animais como reservatórios de zoonoses, uma vez que o cão é fonte de infecção de inúmeras doenças transmissíveis.<sup>12</sup>

A brucelose canina caracteriza-se como doença infectocontagiosa de distribuição mundial, com registros de casos nas mais diferentes regiões do globo<sup>9,1</sup>.

Seu agente etiológico é principalmente a *Brucella canis* e em condições especiais pela *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* e *Brucella suis*. A infecção é de caráter crônico em cães, canídeos silvestres e no homem<sup>1,2</sup>, entretanto, já houve o registro de felinos soropositivos<sup>17,10,6</sup>. Todas as idades e ambos os sexos parecem ser igualmente suscetíveis<sup>8</sup>.

A brucelose canina causada pela *Brucella canis* é uma enfermidade infectocontagiosa, de caráter zoonótico, caracterizada, principalmente, por abortos e esterilidade nas fêmeas e orquite e epididimite nos machos<sup>14</sup>.

Na literatura, há poucas referências que indicam a presença de *Brucella abortus* em cães e a *Brucella canis* tem sido encontrada em inquéritos sorológicos<sup>16</sup>.

A principal fonte de infecção por *Brucella canis* são os machos e as cadelas doentes pelo contágio sexual ou pela via oral enquanto por *Brucella abortus* é a ingestão de restos placentários de ruminantes brucélicos<sup>11</sup>.

A identificação dos cães doentes é importante, pois esses animais constituem fonte de infecção, uma vez que podem eliminar o agente no ambiente pela urina, por ejaculados, por secreções vaginais, por fetos abortados ou pelas fezes<sup>5</sup>.

O diagnóstico etiológico para brucelose canina é efetuado pela detecção de anticorpos séricos contra brucella ou pelo isolamento do microorganismo nos animais infectados. Devido à praticidade, os testes sorológicos são os mais comumente usados para diagnóstico da brucelose canina<sup>3</sup>.

O caráter zoonótico da brucelose canina por *Brucella canis* deve ser considerada em face da complexa relação da população canina com seres humanos, principalmente pelo estreito contato estabelecido entre cães e crianças<sup>6</sup>.

Até o momento há o registro de mais de 35 casos de infecção por *Brucella canis* em seres humanos em todo o mundo, tanto em infecções naturais como naquelas adquiridas em laboratório como doença ocupacional<sup>4</sup>.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Mato Grosso (CEPA/UFMT) (Anexo I) e teve como objeto de estudo 458 cães do município de Cuiabá, capital do estado de Mato Grosso, Brasil. O tamanho da amostra foi delimitado segundo o programa Epiinfo utilizando a população total de animais do município uma prevalência esperada 0,5% (utilizada para doenças sem prevalência conhecida) e um nível de confiança de 95%. O plano amostral utilizado foi feito através de amostragem estratificada. Delimitou-se então, o número de amostras por região: Na região Sul coletou-se amostras de 140 animais, na região Norte 119, na região Leste 108 e na Oeste 91. Em cada região um sorteio determinou os bairros onde foram realizadas as coletas com uma representação de 10% dos bairros de cada região. Foi realizado também um inquérito epidemiológico representado por um questionário respondido pelo proprietário no momento da coleta que continha informações a respeito da caracterização do animal (raça, idade, sexo); da sanidade (vacinação, número de doses e tipo de vacina); do comportamento (domiciliados, com acesso à rua, convivência com outros animais) e aspecto reprodutivo (castrado ou não, se já realizou a cruza, entre outros). O estudo estatístico utilizado foi o estudo descritivo. O diagnóstico de *Brucella canis* foi realizado pelo teste de imunodifusão em gel de Agar (IDGA) padronizado com antígeno que consiste de proteínas e lipopolissacarídeos solúveis, extraídos da bactéria *Brucella ovis*, amostra Reo 198 produzido pela Tecpar. O teste seguiu recomendações do fabricante e o diagnóstico de *Brucella abortus* foi realizado através da prova do antígeno acidificado

tamponado (AAT) como teste de triagem e Soroaglutinação lenta em tubos e 2-Mercaptoetanol como confirmatório.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que 21,27% (97) dos cães apresentaram reação anti *Brucella canis*. Quanto à *Brucella abortus* 25% (114) dos animais foram reagentes ao teste de triagem Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e, desses, apenas 6,14% foram reagentes ao teste confirmatório Prova Lenta mais 2-ME. Estudos parecidos como o de ALMEIDA et al<sup>2</sup> (2004) encontrou 14,2% de ocorrência para *Brucella canis* e 2,8% para *Brucella abortus*. MORAES et al<sup>15</sup> (2002) observou 9,2% para *Brucella canis* e nenhum para *Brucella abortus*. AZEVEDO et al<sup>4</sup> (2003) encontrou 2,2% de prevalência também para a *Brucella canis* no município de Santana da Parnaíba, São Paulo. Em Salvador, Bahia, CAVALCANTI et al<sup>7</sup> (2006) encontrou um valor de 5,88% de reação anti – *Brucella canis*. MEGID et al<sup>14</sup> (1999) ao avaliar cães com histórico de abortos encontrou uma prevalência que variou de 4,6% a 57,1% de frequência em diferentes cães. No entanto, alguns estudos também encontraram frequências próximas às encontradas no município de Cuiabá como por exemplo o de MAIA et al 1999 que ao avaliar a presença de *Brucella canis* encontrou uma positividade de 25,7% em cães no Município do Rio de Janeiro e Niterói, nesse mesmo estudo não houve reação para a *Brucella abortus*. Observou-se que os resultados encontrados estão dentro dos padrões de inquéritos realizados nos mais diversos locais, ainda que a prevalência possa variar de acordo com condições ambientais, manejo, dentre outros.

Estudando os resultados obtidos quanto à idade dos animais reagentes à *Brucella canis* observou-se que 58,76% dos animais positivos tinham entre um e cinco anos de idade. Para a *Brucella abortus* verificou-se que 100% dos casos tinham mais de um ano de idade, sendo desses, 71,43% com idade entre um e cinco anos. Resultados parecidos foram encontrados por GERMANO et al<sup>9</sup> (1987), MORAES et al<sup>15</sup> (2002), ALMEIDA et al<sup>2</sup> (2004), CAVALCANTI et al<sup>7</sup> (2006) onde concluíram que a maior proporção de reagentes à brucelose canina encontra-se na faixa etária compreendida entre 18 e 54 meses (1 ano e meio e 4 anos e meio) de

idade. Em seu estudo AZEVEDO et al4 (2003) também observou que os casos positivos tinham mais de um ano de idade 77,8%, no entanto, sem significância estatística. Essa frequência alta nessa faixa etária pode ser explicada pela maturidade sexual. Esse período é o de maior atividade, maior contato com outros animais fazendo com que essa população esteja mais exposta ao risco de infecção.

Quanto ao sexo, estudos realizados por GERMANO et al9 (1987), AZEVEDO et al4 (2003), MORAES et al15 (2002), ALMEIDA et al2 (2004), CAVALCANTI et al7 (2006), VASCONCELLOS et al18 (2008) mostram que ambos os sexos são igualmente expostos ao risco de infecção por brucelose canina. No presente estudo observou-se uma diferença pequena entre ocorrência de reação anti- *Brucella canis* entre machos e fêmeas, sendo fêmeas 55,67% e machos 44, 33%. No entanto ao analisar o todo, verificou-se que, de todas as fêmeas estudadas 26, 21% foram reagentes e dos machos apenas 17,2% reagiram. Levando em consideração tal resultado pôde-se concluir que fêmeas estão mais expostas ao risco de infecção por *Brucella canis*. Considerando a *Brucella abortus* encontrou uma prevalência de 57% nos machos e 42% nas fêmeas, mas ao avaliar o todo observou-se que, das fêmeas amostradas, apenas 1,45% foram reagentes à *Brucella abortus* enquanto que dos machos 1,6% reagiram não apresentando, portanto, diferença significativa entre machos e fêmeas sendo ambos os sexos igualmente passíveis de se infectar.

Ao avaliar a raça dos animais positivos verificou-se que aproximadamente 66% dos cães reagentes à *Brucella canis* eram sem raça definida (SRD) e para *Brucella abortus* cerca de 57%. Animais SRD foram mais expostos à brucelose canina e tal fato pode ser explicado pelo modo de criação, onde tais animais têm um acesso facilitado às ruas podendo, portanto, entrar em contato com mais patógenos. Outros trabalhos mostraram resultados diferentes quanto a esse aspecto onde não foi observada associação expressiva entre raças quanto ao acometimento pela brucelose como é relatado nos trabalhos de AZEVEDO et al4 (2003) e ALMEIDA et al2 (2004).

Em relação ao manejo dos animais 45,36% dos positivos para *Brucella canis* e 57,14% dos positivos para *Brucella abortus* tinham acesso às ruas e, em cerca de 50% esse acesso livre com frequência. Não houve diferença significativa com relação ao manejo que vem de encontro ao que VASCONCELLOS et al18 (2008)

concluiu em seu trabalho. No entanto, AZEVEDO et al4 (2003) observou que tal fator constitui um evento epidemiológico de risco para a ocorrência da brucelose canina. A diferença pode ser devido ao fato de que foi realizado um inquérito epidemiológico com o preenchimento de formulários respondidos pelo proprietário e, que estes, dependem da veracidade da resposta do proprietário ao respondê-lo.

Das fêmeas positivas para *Brucella canis*, 44% relataram histórico de abortamento enquanto que para *Brucella abortus* nenhuma das fêmeas positivas relataram esse histórico. VASCONCELLOS et al18 (2008) observou que 100% das fêmeas com histórico de abortamentos foram soropositivas enquanto 2,6% das que não tinham histórico foram reagentes. AZEVEDO et al4 2003 observou em seu trabalho uma freqüência de histórico de abortamento em fêmeas positivas de 7,4% e, de 1,4% de freqüência em fêmeas positivas sem histórico de abortamento no entanto sem associação estatística entre os casos de abortamento e a soropositividade. ALMEIDA et al2 2004 observou em 5,5% das fêmeas positivas histórico de abortamento.

Ao analisar a origem dos animais positivos para *Brucella abortus* no teste confirmatório pôde-se verificar que 71,43% (5) provinham da região Leste do município e 28,57 (2) da região Sul e nas demais regiões, Norte e Oeste, nenhum animal foi positivo. A região Sul foi a que apresentou maior proporção de cães que entraram em contato com outra espécie animal, seguida da região Norte, Oeste e Leste aparece somente na última posição. Isso contraria os resultados pois a região Leste foi a que apresentou maior número de animais reagentes à *Brucella abortus*. No entanto, ao avaliar cada animal separadamente observou-se que dois dos cinco animais reagentes já entraram em contato com outras espécies animal, indicando uma probabilidade de ter sido esse contato a razão de se apresentarem positivos à *Brucella abortus*. Os outros três animais não têm histórico nem de infertilidade (no caso de machos), nem de aborto (fêmeas) e também não entraram em contato com outras espécies animal. Dos três apenas um foi citado com acesso livre às ruas o que pode indicar que com esse hábito, o animal pode ter entrado em contato com a bactéria. Na região Sul onde dos dois animais positivos nenhum entrou em contato com outra espécie animal, não apresentam histórico de aborto ou infertilidade sendo que um teve acesso às ruas e o outro não. Todos da região leste como da sul convivem com outros animais e isso deixa uma lacuna, pois pode ser que o animal

estudado não tenha acesso às ruas e os outros que convivem no mesmo ambiente tenham e assim corroboram com a transmissão da doença.

Ao avaliar a região acometida pela *Brucella canis* observou-se mais de 50%, proveniente da região Sul seguida da Oeste, Leste e Norte (tab.1). Proporcionalmente foi também a região com mais casos de aborto (41,18%), seguido da leste (17,39%), oeste (16,67%) e norte (16,13%). Com maior ou menor grau de ocorrência evidenciou-se que a brucelose canina está presente em todas as regiões do município.

Tabela 1 – Tabela representativa do número e frequência de animais positivos para *Brucella canis* segundo a região de origem.

REGIÃO	NÚMERO DE ANIMAIS POSITIVOS	FREQUÊNCIA (%)
SUL	51	52,58%
LESTE	16	16,49%
NORTE	06	06,18%
OESTE	24	24,75%
TOTAL	97	100,00%

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pôde ser verificado que houve reação anti-*Brucella* spp cuja prevalência para *B. canis* foi de 21,23% e *B. abortus* de 6,14% na população canina do município, além de alguns fatores de risco para sua ocorrência como por exemplo idade, com faixa etária mais acometida compreendida entre um e cinco anos de idade. O sexo também foi visto com um fator sendo as fêmeas mais acometidas quando se trata de *B. canis* e machos quando *B. abortus*; a raça também foi um fator importante, sendo

que animais sem raça definida compuseram o maior percentual de positivos sendo que representaram 66% para *B. canis* e 57% para *B. abortus*. Por se tratar de uma zoonose pouco estudada quanto à ocorrência ou prevalência no município, uma doença grave e com risco potencial de transmissão ao homem e, portanto, de extrema importância e com grande impacto para a saúde pública.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACHA, P.N. & SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales brucellosis. 3ed. Washington: OPS/OMS, p.28-56, 2001.
2. ALMEIDA, A.C.; SANTORELLI, A.; BRUZADELLI, R.M.Z.; OLIVEIRA, M.M.N.F. Soroepidemiologia da brucelose 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.
3. AZEVEDO, S.S.; VASCONCELLOS, S.A.; KEID, L.B.; GRASSO, L.M.P.S.; PINHEIRO, S.R.; MASCOLLI, R.; ALVES, C.J. Comparação de três testes sorológicos aplicados ao diagnóstico da infecção de caninos por *Brucella canis*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.41, p.106-112, 2004.
4. AZEVEDO, S.S.; VASCONCELLOS, S.A.; ALVES, C.J.; KEID, L.B.; GRASSO, L.M.P.S.; MASCOLLI, R.; PINHEIRO, S.R. Inquérito sorológico e fatores de risco para a brucelose por *Brucella canis* em cães do município de Santana de Parnaíba, Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.23, n.4, 2003.
5. BAEK, B.K.; LIM, C.W.; RAHMAN, M.S.; HYUN KIM, C.; OLUOCH, A.; KAKOMA, I. *Brucella abortus* infection in indigenous Korean dogs. The CARMICHAEL, L.E. & GREENE, C.E. Canine brucellosis. In: GREENE, C.E. **Infectious diseases of dog and cat**. 2ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p.248-257.
6. CARMICHAEL, L.E. & GREENE, C.E. Canine brucellosis. In: GREENE, C.E. **Infectious diseases of dog and cat**. 2ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p.248-257.
7. CAVALCANTI, L.A.; DASSO, M.G.; OLIVEIRA, F.C.S.; VIEGAS, S.A.R.A.; ALMEIDA, M.G.A.R.; ANUNCIAÇÃO, A.V.M.; ALCANTARA, 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 e Produção Animal**, v.7, n.2, p.176-180, 2006.
8. FRAZER, C.M. **Manual Merck de Veterinária**. 6.ed. São Paulo: ROCA, 1991. p.413
9. 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 da Universidade de São Paulo**, v.24, n.1, p.27-34, 1987

10. LARSSON, M.H.M.A. Pesquisa de aglutininas anti *Brucella canis* em soros humanos na cidade de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 14, p. 404-407, 1980.
11. MALEK DOS REIS, C.B.; HOFFMANN, R.C.; SANTOS, R.S.; TURRI, R.J.G.; ORIANI, M.R.G. Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella canis* e anti- *Brucella abortus* em cães errantes da cidade de São João da Boa Vista, Estado de São Paulo, Brasil (2002-2003). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.45, n.1, p. 32-34, 2008.
12. MASCOLLI, R. et al. Inquérito sorológico para leptospirose em cães do município de Santana de Parnaíba, São Paulo, utilizando a Campanha de Vacinação Anti-rábica do ano de 1999. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.69, n.2, p.25-32, 2002.
13. MEGID, J.; MORAES, C.C.G.; MARCOS JUNIOR, G.; AGOTTANI, J.V.B. Perfil sorológico, isolamento bacteriano e valores hematológicos e urinários em cães naturalmente infectados com *Brucella canis*. **Ciência Rural**, v.30, n.3, 2000.
14. MEGID, J.; BRITO, 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, 1999.
15. [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 Ciência Veterinária**, v. 9, n. 3, p. 154-157, 2002
16. POESTER, F.P.; GONÇALVES, V.S.P.; LAGE, A.P. Brucellosis in Brazil. **Veterinary Microbiology**, 90, p. 5-62, 2002.
17. RANDHAWA, A.S.; DIETERICH, W.H.; HUNTER, C.C.; KELLY, V.P.; JOHNSON, T.C.; SVOBODA, B.; WILSON, D.F. Prevalence of seropositive reactions to *Brucella canis* in a limited survey of domestic cats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.171, n.3, p.267-268, 1977.
18. VASCONCELLOS, 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 na cidade de Campina Grande, Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Saúde e Produção animal**, v.9, n.3, p.436-442, 2008.

## ANEXO I



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ANIMAL



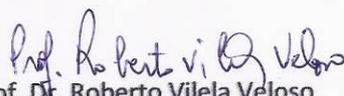
## CERTIFICADO

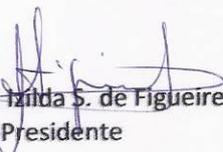
Certificamos que o Protocolo nº 23108.040913/08-2, sobre "Soro prevalência de aglutininas anti-leptospira e reação anti-brucella em cães no município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil", sob a responsabilidade de Dr. DARCI LARA PERCIN NOCITI/GLAUCENYRA CECÍLIA PINHEIRO DA SILVA, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA)-UFMT em reunião ordinária de 11 de março de 2009.

## CERTIFICATE

We certify that the protocol Nº 23108.040913/08-2, entitled "Seroprevalence of anti-Leptospira spp Agglutininas reaction and anti-Brucella spp in dogs in the city of Cuiabá, Mato Grosso, Brazil", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (Federal University of Mato Grosso – UFMT) on March 11, 2009.

Cuiabá-MT, 12 de março de 2009.

  
Prof. Dr. Roberto Vilela Veloso  
Presidente

  
Profª M.Sc. Sandra Izilda S. de Figueiredo  
Vice-Presidente

Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT  
Cidade Universitária – Av. Fernando Correa da Costa, s/nº  
Biotério Central – CEP 78060-900 – CUIABÁ-MT, Brasil.

Telefone: (65) 3615 8890  
Fax.: (65) 3615 8811  
E-mail: cepa@ufmt.br



# 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](#)