



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS**

**EPIDEMIOLOGIA DA BRUCELOSE E LEPTOSPIROSE CANINA NO
MUNICÍPIO DE NATAL-RN E REGIÃO METROPOLITANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

ANNIELLE REGINA DA FONSÊCA FERNANDES

**PATOS – PB
MARÇO – 2012**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS**

**EPIDEMIOLOGIA DA BRUCELOSE E LEPTOSPIROSE CANINA NO
MUNICÍPIO DE NATAL-RN E REGIÃO METROPOLITANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

**Mestranda: Anielle Regina da Fonsêca Fernandes
Orientador: Prof. Dr. Sérgio Santos Azevedo**

**PATOS – PB
MARÇO – 2012**

FICHA CATALOGRÁFICA DA BIBLIOTECA SETORIAL DO
CAMPUS DE PATOS - UFCG

F3631e
2012

Fernandes, Anielle Regina da Fonsêca.
Epidemiologia da brucelose e leptospirose canina
no município de Natal - RN e região metropolitana /
Anielle Regina da Fonsêca.Fernandes - Patos - PB:
CSTR/UFCG, 2012.

50p. : il.

Inclui bibliografia

Orientador: Sérgio Santos Azevedo.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) –
Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade
Federal de Campina Grande.

1 – Zoonose. 2 – Rio Grande do Norte. 3 –
Doença infecciosa.

CDU:616-036.22:636.7

ANNIELLE REGINA DA FONSÊCA FERNANDES

**EPIDEMIOLOGIA DA BRUCELOSE E LEPTOSPIROSE CANINA NO
MUNICÍPIO DE NATAL-RN E REGIÃO METROPOLITANA**

Dissertação aprovada em : 02/03/2012

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Prof. Dr. Sérgio Santos Azevedo
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG

Prof. Dr. Alexandre José Alves
Departamento de Medicina Veterinária/CCA/UFPB

Prof. Dr. Edisio Oliveira de Azevedo
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a DEUS pelo simples milagre de acordar todos os dias, mas, sobretudo com forças para continuar essa caminhada.

À minha mãe Hélia Regina, pelo seu imenso amor, e por ser um exemplo de mulher admirável pela sua força e compaixão. Muito obrigada por ser você, te amo.

Ao meu pai Ademir Gomes, homem trabalhador, de caráter íntegro e verdadeiro exemplo de homem, marido e pai. Muito obrigada por tudo, te amo paiinho.

Ao meu namorado Vinicius Araújo por todo carinho e compreensão, mas acima de tudo por me ensinar a ser cada vez mais forte.

Ao meu orientador, Prof. Sérgio Santos Azevedo pelas oportunidades, confiança e crédito, mais uma vez, a mim dados.

À minha Titia Elma, minha segunda mãe e irmã mais velha, por todo o cuidado e carinho.

À minha tia e companheira de profissão Ademilde Gomes Fernandes pelos ótimos momentos de alegria, carinho, atenção e grande ajuda na execução deste experimento, à você meu muito obrigada.

Aos Médicos Veterinários Raimundo Nonato A. Filho, Marcela Fiuza, Wilma Dantas, Renata Célis, Mônica Pires, Arachelly Gurgel, Giezy F. Barbosa Junior, Cinthia Camacho e Leonardo pela valiosa contribuição nas colheitas de sangue.

Às minhas amigas e irmãs de coração Iana, Fabrícia, Cristiane, Aline Antas, Aline Guedes, Daniele Luna e Tereza Emmanuelle pela oportunidade de conhecê-las, pela amizade conquistada, pelas lágrimas e risadas compartilhadas.

À toda equipe do laboratório de Doenças Transmissíveis do CSTR/UFMG por toda a ajuda prestada e pela amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado.

A todos os proprietários que consentiram as colheitas de sangue e a seus animais, que mesmo sem saberem contribuíram significativamente para esta pesquisa.

Enfim a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
INTRODUÇÃO GERAL.....	8
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	11
CAPITULO I: CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA BRUCELOSE CANINA NO MUNICÍPIO DE NATAL- RN E REGIÃO METROPOLITANA.....	13
Abstract	14
Resumo	15
1 - Introdução	16
2 - Material e Métodos	17
3 - Resultados e Discussão	19
4 - Conclusão	21
5 - Referências	22
CAPITULO II: INQUÉRITO SOROLÓGICO, DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E FATORES DE RISCO PARA LEPTOSPIROSE CANINA NA REGIÃO METROPOLITANA DE NATAL – ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE.....	29
Abstract	30
Resumo.....	31
1 - Introdução	32
2 - Material e Métodos	34
3 - Resultados e Discussão	35
4 - Conclusão	38
5 - Referências.....	39
CONCLUSÕES GERAIS	46
APÊNDICE	47

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO I - CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA BRUCELOSE CANINA NO MUNICÍPIO DE NATAL-RN E REGIÃO METROPOLITANA.....	10
Quadro 1 - Frequência de anticorpos anti- <i>Brucella canis</i> em 416 cães de acordo com a localização da clínica no município de Natal, Rio Grande do Norte, no período de março a novembro de 2011.....	22
Quadro 2 - Análise univariada de fatores de risco associados com a soropositividade para <i>Brucella canis</i> em 416 cães do município de Natal, Rio Grande do Norte.....	23
CAPÍTULO II - INQUÉRITO SOROLÓGICO, DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E FATORES DE RISCO PARA LEPTOSPIROSE CANINA NA REGIÃO METROPOLITANA DE NATAL – ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE	25
Quadro 1 - Frequência de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> spp. de acordo com os respectivos sorovares e títulos em 365 cães da região metropolitana de Natal, Rio Grande do Norte, no período de março a novembro de 2011.....	39
Quadro 2 - Frequência de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> spp. de acordo com a clínica e respectivos sorovares em 365 cães da região metropolitana de Natal, Rio Grande do Norte, no período de março a novembro de 2011.....	39
Quadro 3 - Associação entre variáveis epidemiológicas e ocorrência de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> spp. em 365 cães da região metropolitana de Natal, Rio Grande do Norte, no período de março a novembro de 2011.....	40

LISTA DE FIGURAS

<p>CAPÍTULO I - CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA BRUCELOSE CANINA NO MUNICÍPIO DE NATAL-RN E REGIÃO METROPOLITANA.....</p>	10
<p>Figura 1 - Amostras de soro sanguíneo de cães do município de Natal-RN sob teste de Imunodifusão em gel de Agar para brucelose canina. 1: Antígeno <i>Brucella ovis</i> Reo 198, 2: Soro padrão (controle positivo), 3: Soro teste; Seta branca: linha de precipitação do soro padrão/Seta vermelha: reação positiva</p>	24
<p>Figura 2 - Mapa da região metropolitana de Natal, Estado do Rio Grande do Norte, demonstrando as 10 clínicas veterinárias particulares utilizadas.....</p>	24
<p>CAPÍTULO II - INQUÉRITO SOROLÓGICO, DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E FATORES DE RISCO PARA LEPTOSPIROSE CANINA NA REGIÃO METROPOLITANA DE NATAL – ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE</p>	25
<p>Figura 1 - Mapa da região metropolitana de Natal, Estado do Rio Grande do Norte, demonstrando as 10 clínicas veterinárias particulares utilizadas.....</p>	41

1 INTRODUÇÃO GERAL

2

3 Os animais de companhia, em especial os cães, encontram-se nos dias de hoje,
4 em uma importante posição na sociedade, ocupando lugares especiais dentro do
5 ambiente familiar. Além da companhia para crianças e idosos, podem desempenhar
6 funções como cães-guia para cegos e cães de guarda, e isso faz com que a indústria de
7 produtos para pequenos animais cresça vertiginosamente a cada ano (MINHARRO et
8 al., 2005).

9 Essa crescente importância conferida pela sociedade aos animais de companhia
10 faz com que grande atenção seja dispensada à sanidade desses animais, especialmente
11 no que diz respeito às doenças naturalmente transmissíveis entre animais e seres
12 humanos, as zoonoses. Em muitos casos, nessas enfermidades, os animais encontram-se
13 aparentemente saudáveis como é o caso da brucelose e leptospirose, tornando-se
14 importantes fontes de infecção especialmente pelo contato prolongado.

15 A brucelose por *Brucella canis* é uma das principais doenças infecciosas de
16 caráter reprodutivo em cães e apresenta importância devido à sua elevada ocorrência
17 principalmente em cães comerciais, disseminando-se rapidamente em populações
18 confinadas. Em decorrência das dificuldades do diagnóstico clínico, há necessidade de
19 associação de métodos laboratoriais diretos e indiretos na tentativa de estabelecimento
20 de um protocolo eficaz na detecção de animais infectados tanto em populações
21 confinadas como em casos individuais.

22 Em humanos causa infecções relativamente moderadas e assintomáticas, quando
23 comparada a infecções causadas por outras espécies de *Brucella*, e sua real incidência,
24 embora venha sendo pesquisada desde a década de 1960, ainda não é conhecida. Os
25 principais sinais clínicos são febre, calafrios, fadiga muscular, sudorese profusa, mal-

26 estar, linfadenomegalia e perda de peso. As raras complicações incluem endocardite,
27 miocardite, pericardite, meningite, artrite, hepatite e abscessos viscerais (GREENE e
28 GEORGE, 198; CARMICHAEL e GREENE, 1998). Mais de 35 casos da doença, de
29 acordo com registros oficiais, foram apontados tanto em infecções naturais como
30 aquelas adquiridas em laboratório como doença ocupacional. Estes fatos têm sido
31 comprovados através dos relatos de casos humanos de infecção por *B. canis* e também
32 através dos trabalhos de prevalência de anticorpos anti-*Brucella canis* em soros
33 humanos (GODOY et al., 1977; WALLACH et al., 2004).

34 Já a leptospirose, doença de ocorrência mundial causada por bactérias
35 patogênicas do gênero *Leptospira*, é uma das importantes zoonoses presentes nas
36 regiões tropicais, sendo os cães, depois dos roedores, considerados como a principal
37 fonte de infecção para o homem, já que podem eliminar leptospirosas vivas através da
38 urina durante vários meses, mesmo sem apresentar nenhum sinal clínico característico
39 ou após obter melhora clínica.

40 No Brasil, cerca de 10.000 casos de leptospirose humana são notificados
41 anualmente, ocorrendo principalmente durante o período de elevados índices de
42 precipitações pluviométricas (MCBRIDE et al., 2005), com taxas de mortalidade entre
43 10,0 e 15,0% (KO et al., 2009).

44 Por constituir-se em grave problema de saúde pública, é imprescindível a
45 atuação dos órgãos públicos no sentido de monitorar e prevenir novos casos da doença.
46 Entre as ações de prevenção envolvidas, estão os inquéritos epidemiológicos na espécie
47 canina, os quais são realizados no Brasil e no mundo, uma vez que o cão pode tornar-se
48 carreador assintomático, assumindo então a condição de reservatório (BATISTA et al.,
49 2004).

50 A utilização de animais sentinela como indicadores de problemas em saúde
51 pública, resultam na obtenção de informações importantes, além da identificação de
52 áreas endêmicas, fatores ambientais de risco, doenças emergentes e reemergentes assim
53 como perigo de novos surtos de algumas doenças (DE NARDO, 1997).

54 Dessa forma, o monitoramento e controle dessas zoonoses por meio de
55 inquéritos soro-epidemiológicos para cada localização geográfica se fazem necessários,
56 pois proporciona aos órgãos responsáveis subsídios para a estruturação e o
57 direcionamento de novas políticas públicas, visando o fortalecimento da saúde pública
58 em geral.

59 Tendo em vista o que foi exposto e buscando a ampliação de informações acerca
60 da epidemiologia destas zoonoses, uma vez que são escassas na localidade em questão,
61 objetivou-se com o presente trabalho determinar a situação epidemiológica da brucelose
62 e leptospirose em cães no município de Natal, Rio Grande do Norte.

63

64 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

65

66 BATISTA, C.S.A.; AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.;

67 MORAIS, Z.M.; CLEMENTINO, I.J.; LIMA, F.S.; NETO, J.O.A. Soroprevalência de

68 leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. **Brazilian**69 **Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.41, p.131-136, 2004.

70

71 CARMICHAEL, L. E.; GREENE, C. E. Canine brucellosis. In: GREENE, C. E.

72 **Infectious diseases of the dog and cat**. 2. ed . Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p.

73 248-257.

74

75 DE NARDO, P. Veterinary environmental epidemiology the case of respiratory pathology

76 in the dog, **Annali dell Istituto Superiore di Sanita**, v.33, n.4, p.587-593, 1997.

77

78 GODOY, A. M.; PERES, J. N.; BARG, L. Isolamento de *Brucella canis* em Minas79 Gerais, Brasil. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de**80 **Minas Gerais**, v. 29, n. 1, p. 35-42, 1977.

81

82 GREENE, C. E.; GEORGE, L. W. Canine brucellosis. In: GREENE, C. E. **Clinical**83 **microbiology and infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: W.B.

84 Saunders, 1984. p. 646-662.

85

86 KO, A. I.; GOARANT, C.; PICARDEAU, M. *Leptospira*: the dawn of the molecular87 genetics era for an emerging zoonotic pathogen. **Nature**, v. 7, p. 736-747, 2009.

88

- 89 MCBRIDE, A. J.; ATHANAZIO, D. A.; REIS, M. G.; KO, A. I. Leptospirosis.
90 **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 18, n. 5, p. 376-386, 2005.
91
- 92 MINHARRO, S.; COTTORELLO, A. C. P.; MIRANDA, K. L.; STYNEN, A. P. R.,
93 ALVES, T. M., LAGE, A. P. Diagnóstico da brucelose canina: dificuldades e
94 estratégias. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.29, n.3/4,
95 p.167-173, 2005.
96
- 97 WALLACH, J. C.; GIAMBARTOLOMEI, G. H.; BALDI, P. C.; FOSSATI, C. A.
98 Human infection with M- strain of *Brucella canis*. **Emerging Infectious Diseases**, v.
99 10, n. 1, p. 146-148, 2004.

CAPITULO I
CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA BRUCELOSE CANINA NO
MUNICÍPIO DE NATAL-RN E REGIÃO METROPOLITANA

Manuscrito submetido à Revista
Pesquisa Veterinária Brasileira
/UFRRJ, Seropédica – Rio de
Janeiro.

1 **Caracterização epidemiológica da Brucelose Canina no município**
2 **de Natal-RN e região metropolitana¹**

3
4 Annielle R.F. Fernandes², Ademilde G. Fernandes², Vinicius J.A. Araújo², Clebert J.
5 Alves², Sérgio S. Azevedo²

6
7 **ABSTRACT.-** Fernandes A.R.F., Fernandes A.G., Araújo V.J.A., Alves C.J. & Azevedo
8 S.S. 2012. [**Epidemiological characterization of Canine Brucellosis in the city**
9 **of Natal-RN and region metropolitana]** Caracterização epidemiológica da
10 Brucelose Canina no município de Natal-RN e região metropolitana. *Pesquisa*
11 *Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Universidade Federal de Campina Grande,
12 Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária,
13 Av. Universitária, s/nº, CEP 58700-970, Patos, PB, Brasil. E-mail:
14 sergio.azevedo@pq.cnpq.br

15 This study aimed to determine the prevalence of antibodies to *Brucella*
16 *canis* in dogs in the city of Natal, Rio Grande do Norte State, Brazil, and
17 metropolitan area, and to identify risk factors associated with seropositivity. Sera
18 from 416 dogs attended at veterinary clinics during the period from March to
19 November 2011 were tested for evidence of anti-*B. canis* antibodies by agar gel
20 immunodiffusion test (AGID) using lipopolysaccharides and proteins from *Brucella*
21 *ovis*, strain Reo 198, as antigen. The frequency of anti-*Brucella canis* was 28.85%

¹ Recebido em

Aceito para publicação em

² Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Av. Universitária, s/nº, CEP 58700-970, Patos, PB, Brasil. Autor para correspondência: sergio.azevedo@pq.cnpq.br

22 (120/416) occurring at a high level. The major acquisition of animals
23 through commercial kennels and/or informal creations suggests that a
24 higher disease control is carried out in these establishments.

25

26 INDEX TERMS: infectious diseases, zoonosis, *Brucella canis*, seroprevalence,
27 Northeastern, Brazil.

28

29 **RESUMO.-** O presente trabalho objetivou determinar a prevalência de anticorpos
30 anti-*Brucella canis* em cães do município de Natal, Estado do Rio Grande do Norte,
31 Brasil e identificar fatores de risco associados à soropositividade nesses animais.
32 Soros sanguíneos de 416 cães atendidos na rotina de clínicas veterinárias durante
33 o período de março a novembro de 2011 foram testados pela prova de
34 imunodifusão em gel de ágar (IDGA), utilizando antígeno de lipopolissacarídeos e
35 proteínas de *Brucella ovis*, amostra Reo 198, para o diagnóstico sorológico da
36 infecção. A frequência de anticorpos anti-*Brucella canis* foi de 28,85% (120/416)
37 ocorrendo em um nível alto. O elevado número de animais positivos oriundos de
38 canis comerciais e/ou criações informais sugere que um maior controle da doença
39 seja realizado nesses estabelecimentos.

40

41 TERMOS DE INDEXAÇÃO: doenças infecciosas, zoonose, *Brucella canis*,
42 soroprevalência, Nordeste, Brasil.

43

1 - INTRODUÇÃO

44

45

46 A brucelose é uma das principais doenças infectocontagiosas de caráter
47 reprodutivo em cães causada pela *Brucella canis*, uma bactéria gram-negativa,
48 aeróbica e cocobacilar responsável por sérias alterações culminando geralmente
49 em infertilidade. Nas fêmeas predominam os abortamentos, natimortos ou
50 nascimento de filhotes fracos além de orquite e epididimite nos machos, tendo,
51 portanto, uma relevante importância aos criadores de cães de raça em virtude dos
52 transtornos e problemas que acarreta (Johnson & Walker 1992, Carmichael 1998,
53 Wanke 2004).

54

Devido ao papel que hoje os animais de companhia, em especial os cães,
55 representam para a sociedade, com um convívio cada vez mais estreito e
56 prolongado deve-se considerar o caráter zoonótico desta enfermidade, fato esse
57 comprovado pelos vários relatos de casos humanos de infecção por *B. canis* e
58 também através dos trabalhos de prevalência de anticorpos anti-*Brucella canis* em
59 soros humanos (Larsson 1980, Roxo et al. 1990, Lucero et al. 2005a; Voss, 2008).

60

Nos animais, somente com o exame clínico, não é possível chegar ao
61 diagnóstico da infecção podendo ser grande o número de animais que
62 permanecem assintomáticos, uma vez que, diferente das outras infecções
63 sistêmicas, eles estão aparentemente sadios atuando como importantes fontes de
64 infecção (Johnson & Walker 1992, Dziezyc 2000, Keid et al. 2004).

65

O diagnóstico etiológico, portanto, é efetuado por métodos laboratoriais
66 indiretos e diretos, através da detecção de anticorpos presentes no soro sanguíneo
67 ou pelo isolamento da bactéria nos animais infectados além de métodos
68 moleculares. Devido à praticidade, os testes sorológicos são os mais comumente

69 usados e possuem vantagens como: facilidade na execução, rápido processamento
70 e a possibilidade do exame de um número considerável de amostras.

71 Desse modo, devido à escassez de estudos no estado do Rio Grande do
72 Norte, particularmente no município de Natal e à relevância da doença como
73 zoonose, objetivou-se com este trabalho determinar a frequência de anticorpos
74 anti-*Brucella canis* em cães do referido município e como a doença se distribui na
75 referida localidade além de identificar os fatores de risco associados à
76 soropositividade nesses animais.

77

78 **2 - MATERIAL E MÉTODOS**

79

80 A pesquisa foi realizada no município de Natal, capital do estado do Rio Grande do
81 Norte. Possui uma área de 167 Km², população de 803.739 habitantes,
82 temperatura média de 28°C, precipitação pluviométrica média anual de 1.554 mm
83 e uma altitude média de 33 metros acima do nível do mar. Possui 37 bairros e é a
84 sede de uma zona metropolitana composta por 10 municípios (Brasil 2011).

85 Foram utilizados 416 cães com idade acima de três meses que passaram
86 pelo atendimento de 10 clínicas particulares localizados em vários pontos da
87 cidade durante o período de março a novembro de 2011. Esses animais foram
88 selecionados de acordo com o consentimento dos proprietários além da condição
89 corporal em que se encontravam.

90 As colheitas de sangue foram efetuadas por punção na veia cefálica ou veia
91 jugular externa utilizando-se seringas descartáveis de 5 ml. As amostras foram
92 colocadas em tubos identificados, centrifugadas a 3.500 rpm por 15 minutos para a
93 obtenção do soro e estocadas a -20°C para posterior realização do diagnóstico

94 sorológico no Laboratório de Doenças Transmissíveis da Unidade Acadêmica de
95 Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, da Universidade Federal
96 de Campina Grande, Campus de Patos, Paraíba.

97 Ainda no ato da colheita de sangue os proprietários dos cães responderam a
98 um questionário epidemiológico, elaborado de modo a fornecer dados com o
99 intuito de verificar a ausência ou presença de algumas práticas e condições que
100 atuem como possíveis fatores de risco para a brucelose canina.

101 Para o diagnóstico sorológico empregou-se a técnica de imunodifusão em
102 gel de Agar (IDGA) utilizando-se “kits” produzidos pelo Instituto de Tecnologia do
103 Paraná (TECPAR). A técnica foi executada de acordo com as recomendações do
104 fabricante.

105 A análise de possíveis fatores de risco associados à soropositividade para
106 *Brucella canis* foi efetuada com os dados coletados com os questionários
107 epidemiológicos aplicados aos proprietários. Essa análise foi efetuada em duas
108 etapas: análise univariada e análise multivariada. Na análise univariada, foram
109 formados dois grupos de animais – soropositivos e soronegativos – que foram
110 comparados frente às variáveis analisadas. Aquelas variáveis que apresentaram
111 um valor de $p \leq 0,2$ pelo teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher foram
112 selecionadas para a análise multivariada, utilizando-se a regressão logística
113 múltipla. O nível de significância adotado foi de 5%, e as análises foram realizadas
114 com o programa SPSS 20.0 *for Windows*.

115

116

117

118

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

119

120

121 Dos 416 soros analisados pela prova da IDGA, 120 amostras tiveram reação
122 positiva, cuja linha de precipitação apresentou identidade com a linha formada
123 pelo soro padrão (Figura 1) correspondendo a uma frequência de 28,85 %. Os
124 resultados por clínica são apresentados no Quadro 1, onde se observa que em
125 todas elas houve pelo menos um animal positivo, sugerindo que o agente está
126 distribuído homoganeamente na região (Figura 2).

127 Esse percentual de positividade foi inferior aos resultados obtidos por Cui
128 et al. (2012) em Beijing na China, Molnar et al. (2001) em Belém, PA, Vargas et al.
129 (1996) em Santa Maria, RS, Megid et al. (1999) em Botucatu, SP, Nárez et al. (1999)
130 na cidade do México, que obtiveram 48,75%, 45,37%, 72,7%, 57,1%, e 45% de
131 positividade, respectivamente. Estes resultados podem ser explicados pelo fato
132 desses estudos, com exceção dos dois primeiros, terem sido realizados em cães
133 comerciais que possuíam um histórico de infertilidade, abortamentos e casos de
134 natimortos, sendo um ambiente altamente favorável para a difusão da infecção,
135 devido às condições de confinamento dos animais, favorecendo a transmissão da
136 bactéria, pelo fato de haver um contato íntimo de animais doentes e sadios. No
137 presente trabalho, foi examinada uma amostra de animais que não apresentava
138 histórico de problemas reprodutivos que poderiam ser sugestivos de brucelose
139 canina.

140 Frequências menores de 3,11% (6/192), 0,8% (4/500) e 6,91% (38/550),
141 foram constatadas por Fernandes (2009) empregando a IDGA em cães
142 domiciliados no município de Patos-PB, Malek dos Reis et al. (2008) também
143 utilizando a mesma técnica em cães errantes da cidade de São João da Boa Vista-SP

144 e Voss (2008) com a técnica de soroglutinação rápida em cartão (SAR) nos cães
145 domiciliados de em Marília-SP. Essas diferenças podem ser explicadas pelo fato de
146 a prevalência de *B. canis* ser variável segundo a região, a população estudada e o
147 método de diagnóstico empregado, bem como as diferenças na sensibilidade e
148 especificidade dos testes.

149 Neste estudo, não houve associação entre as variáveis estudadas e a
150 ocorrência da infecção (Quadro 2), entretanto, embora não identificadas como
151 fator de risco para a infecção por *B. canis*, algumas merecem ser destacadas.

152 Considerando a idade dos animais, verifica-se que 85,83% (103/120) dos
153 animais positivos tinham mais de um ano de idade. Fato esse também observado
154 por Fernandes (2009), Azevedo et al. (2003) e Moraes et al. (2002) que
155 encontraram uma maior proporção de resultados positivos em animais com idade
156 superior a um ano. Isso pode ser justificado pela maturidade sexual e conseqüente
157 cobertura, bem como pela maior possibilidade de contato com animais infectados
158 em função da idade (Johnson & Walker 1992, Carmichael & Greene 1998). Além
159 disso, ainda de acordo com Johnson & Walker (1992), animais impúberes podem
160 adquirir a infecção, onde normalmente a manifestação clínica é apenas uma
161 linfadenopatia uni ou bilateral, enquanto que os sinais clínicos reprodutivos só se
162 manifestam após a puberdade.

163 Analisando a raça, observa-se que a ocorrência da doença manteve-se na
164 proporção de 1:3 do total de animais em relação ao número de soropositivos, não
165 sendo, portanto, constatada associação entre a raça e a ocorrência de soropositivos
166 para *B. canis*. Quando das primeiras descrições de cães infectados por *B. canis*, os
167 animais da raça Beagle foram considerados como os mais susceptíveis (Moore
168 1969, Moore & Gupta 1970, Pickerill & Carmichael 1972). No entanto,

169 posteriormente a doença passou a ser diagnosticada em cães de raças diversas
170 (Carmichael & Kenney 1968, Fredrickson & Barton 1974). Vale salientar que
171 grande parte que constitui o universo amostral do presente estudo são de animais
172 com raça definida, isto se deve à própria preferência de seus proprietários que
173 acabam por adquirí-los através de canis comerciais, pet shops e até mesmo de
174 criações domiciliares informais. Do total de positivos, 63,33% (76/120) dos
175 animais tinham procedência desses estabelecimentos (dado obtido após resultado
176 da sorologia em nova entrevista). A prevenção da infecção é particularmente
177 importante nesses lugares, pois uma vez introduzida numa população confinada, a
178 doença se dissemina rapidamente (Keid et al. 2004).

179 As variáveis passeio e contato com animais representaram respectivamente
180 57,5% (69/120) e 61,66% (74/120) dos soropositivos e podem estar relacionadas
181 com o fato de inicialmente ao saírem, podem entrar em contato com outros
182 animais, inclusive cães errantes (Carmichael & Greene 1998, Vasconcelos 2008) o
183 que aumenta as chances da infecção para si e para seus contactantes no domicílio.

184

185

4 - CONCLUSÃO

186

187 A frequência de anticorpos anti-*Brucella canis* em cães do município de Natal,
188 Estado do Rio Grande do Norte e região metropolitana, foi elevada (28,85%), bem
189 como a maioria dos animais positivos foram procedentes de canis comerciais e/ou
190 criações informais, o que sugere maior controle da doença nesses
191 estabelecimentos.

192

193 **Agradecimentos.**- Aos Médicos Veterinários Raimundo N. Alves Filho, Ademilde
194 Gomes Fernandes, Marcela Fiuza, Wilma Dantas, Renata Célis, Mônica Pires,
195 Arachelly Gurgel, Giezy F. Barbosa Junior e Cinthia Camacho pela ajuda nas
196 colheitas de sangue. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
197 Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado.

198

199

5 – REFERÊNCIAS

200

201 Azevedo S. S., Vasconcellos S. A., Alves C. J., Keid L. B., Grasso L. M. P. S., Mascoll R.,
202 Pinheiro S. R. 2003. Inquérito sorológico e fatores de risco para a brucelose
203 por *Brucella canis* em cães do município de Santana de Parnaíba, Estado de São
204 Paulo. Pesquisa Veterinária Brasileira. 23:156-160.

205 Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2011. Rio Grande do
206 Norte. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 20 jan. 2012.

207 Carmichael, L. E. 1998. Brucelosis canina causada por *B. Canis*: enfermidade clínica;
208 problemas em imunodiagnóstico. Revista de Medicina Veterinaria. 80:102-
209 106.

210 Carmichael L. E. & Greene C. E. 1998. Canine brucellosis, p. 248-257. In: Greene C.
211 E. (ed.) Infectious Diseases of the Dog and Cat. 2nd ed. W.B. Saunders,
212 Philadelphia.

213 Carmichael L.E. & Kenney R.M. 1968. Canine abortion caused by *Brucella canis*. J.
214 Am. Vet. Med. Assoc. 152(6):605-616.

215 Cui B., Jiang H., Mao L., Zhao H., Li L., Piao D. Tian G., Di D., Lei L. 2012. Letter to the
216 Editor /Veterinary Microbiology 154:419–421.

- 217 Dziezyc, J. 2000. Canine systemic bacterial infections. *Vet. Clin. North America*
218 *Small Animal Practice*. 30:1103-1117.
- 219 Fernandes A.R.F. 2009. Levantamento epidemiológico da brucelose canina no
220 município de Patos, Paraíba. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária)
221 – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina
222 Grande.71p.
- 223 Fredrickson L.E. & Barton C.E. 1974. A serologic survey for canine brucellosis in a
224 metropolitan area. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 165(11):987-989.
- 225 Johnson C. A. & Walker R. D. 1992. Clinical signs and diagnosis of *Brucella canis*
226 infection. *Compendium on Continuing Education for the Practicing*
227 *Veterinarian Small Animal*. 14:763-772.
- 228 Keid L. B., Soares R. M., Morais Z. M., Richtzenhain L. J., Vasconcellos S. A. 2004.
229 *Brucella spp.* isolation from dogs from commercial breeding kennels in São
230 Paulo state, Brazil. *Brazilian Journal Microbiology*. 35:161-166.
- 231 Larsson M. H. M. A. 1980. Pesquisa de aglutininas anti-*Brucella canis* em soros
232 humanos na cidade de São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública*. 14: 404-407.
- 233 Lucero N. E., Escobar G. I., Ayala S. M., Jacob N. O. 2005a. Diagnosis of human
234 brucellosis caused by *Brucella canis*. *Journal of Medical Microbiology*. 54:457-
235 461.
- 236 Malek dos Reis C. B., Hoffmann R. C., Santos R. S., Turri R. J. G., Oriani M. R. G. 2008.
237 Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella canis* e anti-*Brucella abortus* em cães
238 errantes da cidade de São João da Boa Vista, Estado de São Paulo, Brasil (2002-
239 2003). *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo. 45:32-34.
- 240 Megid J., Brito A.F., Moraes C.C.G., Fava N. & Agottani J. 1999. Epidemiological
241 assessment of canine brucellosis. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 51(5):439-440.

- 242 Molnár L., Molnár E. & Carvalho M. 2001. Capacidade de algumas provas
243 sorológicas no diagnóstico de brucelose canina. *Hora Vet.* 21(121):45-49.
- 244 Moore J.A. 1969. *Brucella canis* infection in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155: 2034-
245 2037.
- 246 Moore J.A. & Gupta B.N. 1970. Epizootiology, diagnosis, and control of *Brucella*
247 *canis*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 156:1737-1742.
- 248 Moraes C.C.G., Megid J., Souza L.C. & Crocci A.J. 2002. Prevalência da brucelose
249 canina na microrregião da serra de Botucatu, São Paulo, Brasil. *Arqs Inst.*
250 *Biológico, São Paulo*, 69(2):7-10.
- 251 Nárez G.M., Cortés E.M., Reynoso B.A., Basilio J.I.M. & Aparicio E.D. 1999.
252 Seguimiento de un brote de *Brucella canis* en un criadero de perros en La
253 ciudad de Mexico. *Tec. Pec. Mexico* 37(3):43-50.
- 254 Pickerill P.A. & Carmichael L.E. 1972. Canine brucellosis: control programs in
255 commercial kennels and effect on reproduction. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*
256 160(12):1607-1615.
- 257 Roxo E., Pinheiro S. R., Brandão M. M., Aguiar J. A. C., Gouvêa G., Piorum M. L., Lima
258 M. A. B. 1990. Brucelose canina: relato de uma possível transmissão de
259 *Brucella canis* ao homem a partir de uma cadela da raça Doberman. *Boletim*
260 *Informativo Controle de Zoonoses Urbanas*.13:47-49.
- 261 Vargas A.C., Lazzari A., Dutra V. & Poester F. 1996. Brucelose canina: relato de caso.
262 *Ciência Rural, Santa Maria*, 26(2):305-308.
- 263 Vasconcelos R. T. J., Alves C. J., Clementino I. J., Araújo Neto J. O., Alves F. A. L.,
264 Batista C. S. A., Bernardi F., Soto F. R. M., Oliveira R. M., Azevedo S. S. 2008.
265 Soroprevalência e fatores de risco associados à infecção por *Brucella canis* em

- 266 cães da cidade de Campina Grande, estado da Paraíba. Revista Brasileira de
267 Saúde e Produção Animal. 9:436-442.
- 268 Voss C. R. 2008. Soroprevalência da brucelose canina para *b. canis* e *b. abortus* e
269 avaliação sorológica dos humanos contactantes da cidade de Marília-SP.
270 Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina
271 Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São
272 Paulo. 81p.
- 273 Wanke M.M. 2004. Canine brucellosis. Anim. Reprod. Sci.82-83:195-207.

Legenda das Figuras

Fig.1. Amostras de soro sanguíneo de cães do município de Natal-RN sob teste de Imunodifusão em gel de Agar para brucelose canina. 1: Antígeno *Brucella ovis* Reo 198, 2: Soro padrão (controle positivo), 3: Soro teste; Seta branca: linha de precipitação do soro padrão/Seta vermelha: reação positiva.

Fig.2. Mapa da região metropolitana de Natal, Estado do Rio Grande do Norte, demonstrando as 10 clínicas veterinárias particulares utilizadas.

Os Quadros

Quadro 1. Frequência de anticorpos anti-*Brucella canis* de acordo com a localização da clínica em 416 cães da região metropolitana de Natal, Rio Grande do Norte, no período de março a novembro de 2011

Clínica Veterinária	Nº de animais utilizados	Nº de animais positivos (%)	Localização
A	123	52 (43,33%)	Zona Sul
B	52	13 (10,83%)	Zona Sul
C	49	18 (15%)	Zona Sul
D	35	6 (5%)	Zona Oeste
E	11	1 (0,83%)	Zona Oeste
F	6	1 (0,83%)	Zona Leste
G	84	21 (17,5%)	Zona Norte
H	34	3(2,5%)	Zona Norte
I	10	1(0,83%)	Zona Norte
J	12	4(3,33%)	Zona Norte
Total	416	120 (100%)	...

Quadro 2. Análise univariada de fatores de risco associados com a soropositividade para *Brucella canis* em 416 cães do município de Natal, Rio Grande do Norte.

Variável	Categoria	Nº total de animais	Nº de animais soropositivos (%)	P
Escolaridade do proprietário	1º Grau incompleto	2	0 (0)	0,545
	1º Grau completo	3	2 (66,7)	
	2º Grau incompleto	13	3 (23,1)	
	2º Grau completo	181	48 (26,5)	
	3º Grau incompleto	23	7 (30,4)	
	3º Grau completo	194	60 (30,9)	
Sexo dos animais	Macho	192	49 (25,5)	0,201
	Fêmea	224	71 (31,7)	
Idade dos animais	3 – 12 meses	48	17 (35,4)	0,721
	13 – 48 meses	147	41 (27,9)	
	49 – 72 meses	63	19 (30,2)	
	> 72 meses	158	43 (27,2)	
Raça	Sem raça definida	101	30 (29,7)	0,927
	Com raça definida	315	90 (28,6)	
Tipo de criação	Domiciliar	372	113 (30,4)	0,134*
	Semi-domiciliar	38	6 (15,8)	
	Solto	6	1 (16,7)	
Alimentação	Ração comercial	261	77 (29,5)	0,548
	Comida caseira	13	2 (15,4)	
	Ração+comida caseira	142	41 (28,9)	
Contato com outros animais	Não	186	46 (24,7)	0,119*
	Sim	230	74 (32,2)	
Contato com animais silvestres	Não	392	112 (28,6)	0,789
	Sim	24	8 (33,3)	
Ambiente dos cães	Terra	14	6 (42,9)	0,302
	Cimento	231	61 (26,4)	
	Terra+Cimento	171	53 (31,0)	
Limpeza do ambiente dos cães	Não	5	1 (20,0)	1,000
	Sim	411	119 (29,0)	
Vacinação	Não	31	6 (19,4)	0,314
	Sim	385	114 (29,6)	
Passear com os cães	Não	206	51 (24,8)	0,086*
	Sim	210	69 (32,9)	
Viajar com os cães	Não	345	97 (28,1)	0,561
	Sim	71	23 (32,4)	

* Variáveis selecionadas e usadas na regressão logística múltipla

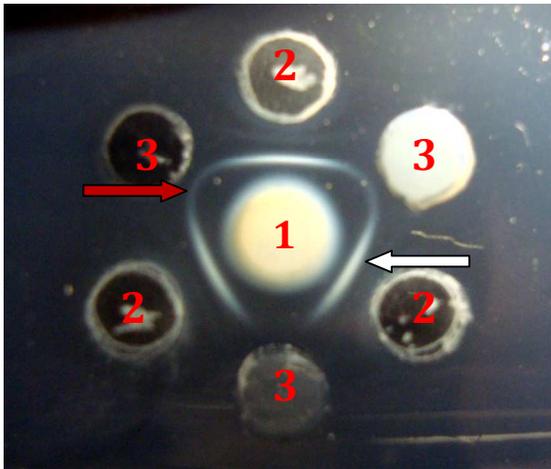


Figura 1

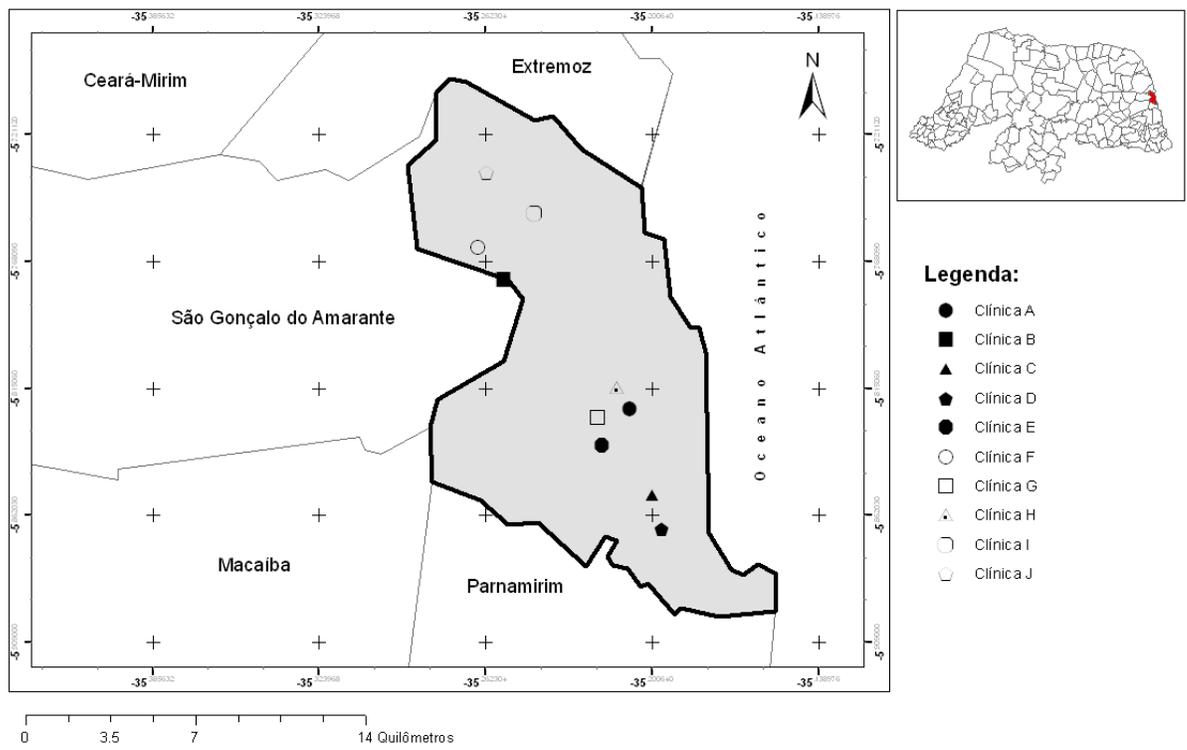


Figura 2

CAPITULO II
INQUÉRITO SOROLÓGICO, DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E FATORES DE
RISCO PARA LEPTOSPIROSE CANINA NA REGIÃO METROPOLITANA DE
NATAL – RIO GRANDE DO NORTE

Manuscrito submetido à Revista
Pesquisa Veterinária Brasileira
/UFRRJ, Seropédica – Rio de
Janeiro.

1 **Inquérito sorológico, distribuição espacial e fatores de risco para**
2 **leptospirose canina na região metropolitana de Natal, Estado do**
3 **Rio Grande do Norte¹**

4
5 Annielle R.F. Fernandes², Ademilde G. Fernandes², Vinicius J.A. Araújo², Severino
6 S.S. Higino², Maria L.C.R. Silva², Clebert J. Alves², Sérgio S. Azevedo²

7
8 **ABSTRACT.-** Fernandes A.R.F., Fernandes A.G., Araújo V.J.A., Higino S.S.S., Silva
9 M.L.C.R., Alves C.J. & Azevedo S.S. 2012. [**Serological survey, spatial distribution**
10 **and risk factors for canine leptospirosis in the metropolitan area of Natal,**
11 **Rio Grande do Norte State]** Inquérito sorológico, distribuição espacial e fatores
12 de risco para leptospirose canina na região metropolitana de Natal, Estado do Rio
13 Grande do Norte. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Universidade
14 Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Unidade
15 Acadêmica de Medicina Veterinária, Av. Universitária, s/nº, CEP 58700-970, Patos,
16 PB, Brasil. E-mail: sergio.azevedo@pq.cnpq.br

17 The aim of this study was to determine the frequency of anti-*Leptospira* spp.
18 antibodies in dogs in Natal and metropolitan area, Rio Grande do Norte State,
19 Brazil, and to identify risk factors associated with the infection. A total of 365
20 blood samples were collected from dogs attended at the routine of several
21 veterinary clinics during March to November 2011. Serological diagnosis of

¹ Recebido em

Aceito para publicação em

² Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Av. Universitária, s/nº, CEP 58700-970, Patos, PB, Brasil. Autor para correspondência: sergio.azevedo@pq.cnpq.br

22 leptospirosis was carried out using the microscopic agglutination test (MAT) with
23 24 *Leptospira* spp. serovars as antigens. Of the 365 dogs 25 were seropositive for
24 at least one of the *Leptospira* spp. serovars with frequency of 6.8%. Most frequent
25 serovars were Shermani (40%), Sentot (36%) and Copenhageni (20%). The
26 epidemiological profile of canine leptospirosis in the metropolitan region of Natal,
27 Rio Grande do Norte State, suggests that the infection occurs in a low frequency
28 compared with other regions, probably due to high percentage of vaccinated
29 animals. Moreover, presence of rodents can be a significant risk factor in the region
30 since serovars maintained by these animals were identified among the most
31 frequent.

32

33 INDEX TERMS: Zoonoses, *Leptospira* spp., serology, dogs, Northeastern Brazil.

34

35 **RESUMO** - Objetivou-se com este estudo, determinar a frequência de anticorpos
36 anti-*Leptospira* spp. em cães do município de Natal e região metropolitana, Estado
37 do Rio Grande do Norte, Brasil, e identificar fatores de risco associados à infecção.
38 Foram examinadas 365 amostras de soro sanguíneo de cães atendidos na rotina de
39 diversas clínicas veterinárias durante o período de março a novembro de 2011. O
40 diagnóstico sorológico da leptospirose foi realizado pela técnica de
41 soroaglutinação microscópica (SAM), utilizando-se 24 sorovares de *Leptospira* spp.
42 como antígenos. Dos 365 cães, 25 foram soropositivos para pelo menos um dos
43 sorovares de *Leptospira* spp., com frequência de 6,8%. Os sorovares mais
44 frequentes foram Shermani (40%), Sentot (36%) e Copenhageni (20%). O perfil
45 epidemiológico da leptospirose canina na região metropolitana de Natal, Estado do
46 Rio Grande do Norte, sugere que a infecção ocorre com frequência baixa em

47 comparação com outras regiões, provavelmente devido ao grande percentual de
48 animais vacinados. Por outro lado, a presença de roedores pode ser um importante
49 fator de risco na região, uma vez que sorovares mantidos por esses animais foram
50 identificados entre os mais frequentes.

51

52 TERMOS DE INDEXAÇÃO: Zoonoses, *Leptospira* spp., sorologia, cães, Nordeste do
53 Brasil.

54

55 1 - INTRODUÇÃO

56

57 A leptospirose é uma zoonose infectocontagiosa, amplamente disseminada, de
58 caráter agudo e crônico, que acomete animais domésticos, silvestres e seres
59 humanos, e sua relevância se dá pelo efeito que possui tanto na economia quanto
60 na saúde pública (Langoni et al. 1998, Alves et al. 2003). A ocorrência desta
61 enfermidade é variável nas diferentes regiões do mundo, podendo apresentar-se
62 tanto na forma esporádica quanto na endêmica e sua distribuição geográfica é
63 fortemente favorecida pelas condições ambientais das regiões de clima tropical e
64 subtropical, além dos condicionantes sócio-econômicos (Côrtes 1993, Batista et al.
65 2004).

66 É causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira*, que contempla
67 12 genomespécies distintas com mais de 300 sorovares (Merien et al. 2005). Essa
68 grande variedade de sorovares propicia a ocorrência de variações regionais, bem
69 como nas espécies estudadas. Constata-se, ainda, uma predileção dos diferentes
70 sorovares por determinadas espécies, podendo um hospedeiro ser infectado
71 simultaneamente por mais de um sorovar (Acha & Szyfres 2003).

72 O principal reservatório da bactéria em meio urbano é reconhecidamente o
73 rato, particularmente o *Rattus norvegicus*, que a abriga de forma permanente,
74 principalmente o sorovar Icterohaemorrhagiae, sendo capaz de eliminá-la de
75 forma intermitente e por longos períodos pela urina (Langoni et al. 1998). No
76 entanto, entre os animais domésticos, os cães assumem o papel de importantes
77 fontes de infecção. Essa relevância na transmissão da leptospirose ao homem se
78 deve ao fato da relação cão/humano ser, cada vez mais, de forma estreita e
79 prolongada, aliando-se ao fato do cão excretar leptospiras vivas pela urina por
80 longos períodos, geralmente não apresentando sinais clínicos da doença
81 (Lilenbaum et al. 2005).

82 O contato indireto com água ou solo contaminado são vias de transmissão
83 comuns para o homem, particularmente nas ocasiões em que ocorrem elevados
84 índices de precipitações pluviométricas e nas regiões em que o solo apresenta
85 reação neutra ou levemente alcalina, uma vez que essas condições facilitam a
86 sobrevivência destes microrganismos no ambiente, associando-se ainda a
87 variedade de espécies hospedeiras que facilitam a cadeia de eventos necessários
88 para a transmissão da doença (Langoni et al. 1998, Faine et al. 1999, Batista et al.
89 2005).

90 Os inquéritos sorológicos exercem um papel de relevância indiscutível no
91 controle da leptospirose, pois permitem o conhecimento dos diferentes sorovares
92 existentes em determinada região (Faine et al. 1999). Além dos resultados
93 sorológicos é importante avaliar os fatores de risco aos quais os cães estão
94 expostos, que justificam sua importância como reservatórios e fontes de infecção
95 para o homem, permitindo um direcionamento racional das medidas de prevenção
96 (Azevedo et al. 2011).

97 Dessa forma, em virtude da relevância desta doença como zoonose, da
98 escassez de estudos sobre a mesma no estado do Rio Grande do Norte e com a
99 finalidade de ampliar informações acerca de sua epidemiologia, objetivou-se com
100 este trabalho determinar a frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães
101 do município de Natal e região metropolitana, identificar fatores de risco
102 associados à infecção, bem como sua distribuição espacial.

103

104

2 - MATERIAL E MÉTODOS

105

106 A pesquisa foi realizada no município de Natal, capital do Estado do Rio Grande do
107 Norte. Possui uma área de 167 Km², população de 803.739 habitantes,
108 temperatura média de 28°C, precipitação pluviométrica média anual de 1.554 mm
109 e uma altitude média de 33 metros acima do nível do mar. Possui 37 bairros e é a
110 sede de uma zona metropolitana composta por 10 municípios (Brasil 2011).

111 Foram utilizados 365 cães atendidos na rotina de 10 clínicas particulares
112 (Figura 1) durante o período de março a novembro de 2011, com idade acima de
113 três meses. Não foram adotados critérios probabilísticos para a seleção dos
114 animais por clínica, levando-se em conta para tal a disponibilidade e o
115 consentimento dos proprietários. A colheita de sangue foi efetuada por punção das
116 veias jugular externa ou cefálica utilizando-se seringas descartáveis de 5 mL. As
117 amostras de sangue foram centrifugadas a 3.500 rpm por 15 minutos para
118 obtenção do soro, o qual foi estocado a -20 °C para posterior realização do
119 diagnóstico sorológico da infecção no Laboratório de Doenças Transmissíveis da
120 Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural,
121 da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Paraíba.. Os

122 proprietários dos cães responderam a um questionário epidemiológico, elaborado
123 de modo a fornecer dados com o intuito de verificar a ausência ou presença de
124 algumas práticas e condições que atuassem como possíveis fatores de risco para a
125 leptospirose canina.

126 Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira* spp., foi utilizada a
127 técnica de soroaglutinação microscópica (Galton et al. 1965, Cole et al. 1973), com
128 uma coleção de antígenos vivos que incluiu 24 sorovares: Australis, Bratislava,
129 Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri,
130 Grippotyphosa, Hedomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama,
131 Pomona, Pyrogenes, Hardjoprajitno, Wolffi, Hardjobovis, Shermani, Tassarovi,
132 Patoc e Sentot. Os soros foram triados na diluição de 1:100, e aqueles que
133 apresentaram 50% ou mais de aglutinação foram titulados pelo exame de uma
134 série de diluições geométricas de razão dois. O título do soro foi a recíproca da
135 maior diluição que apresentou resultado positivo. Animais com título ≥ 100 foram
136 considerados positivos. Os antígenos foram examinados ao microscópio de campo
137 escuro, previamente aos testes, a fim de verificar a mobilidade e a presença de
138 auto-aglutinação ou de contaminantes.

139 Para a verificação de possível associação entre os dados obtidos com os
140 questionários epidemiológicos e a ocorrência da infecção, foi utilizado o teste de
141 qui-quadrado ou teste exato de Fisher. O nível de significância adotado foi de 5%, e
142 as análises foram realizadas com o programa SPSS 20.0 *for Windows*.

143

144

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

145

146 Das 365 amostras analisadas, 25 apresentaram anticorpos para *Leptospira* spp.,
147 com frequência de 6,8% e títulos variando de 100 a 3200, predominando os
148 sorovares Shermani (40%), Sentot (36%) e Copenhageni (20%). Também foi
149 encontrada reação positiva para o sorovar Grippotyphosa (4%) (Quadro 1). Os
150 resultados por clínica são apresentados no Quadro 2, onde se observa que apenas
151 na clínica E não houve animais positivos, sugerindo que o agente está distribuído
152 homoganeamente na região (Figura 1).

153 Frequências superiores e este estudo foram obtidas por Azevedo et al.
154 (2011) na cidade de Patos, semiárido paraibano, Lemos et al. (2010) em cães
155 errantes no município de Aracaju, Sergipe, Silva et al. (2009) em Botucatu, São
156 Paulo, Aguiar et al. (2007) no município de Monte Negro, Rondônia e Recuero et al.
157 (2006) também utilizando cães errantes da zona sul do Rio Grande do Sul que
158 obtiveram respectivamente 19,73%, 37%, 17,9%, 27,3% e 33%. Essas diferenças
159 na percentagem de positividade podem ser explicadas pela variedade de fatores
160 que influenciam na ocorrência da leptospirose, com destaque para a topografia,
161 região, temperatura, umidade, precipitações pluviométricas, reservatórios
162 selvagens, reservatórios domésticos e outros fatores ambientais, bem como pela
163 diferença nas populações caninas estudadas (Alves et al. 2000). A baixa frequência
164 de animais soropositivos no presente trabalho pode ser justificada pela ampla
165 utilização de vacinas antileptospirose na região, visto que 335 cães foram
166 vacinados contra a doença, representando 91,8% dos animais (Quadro 3).

167 Enquanto que no presente trabalho o sorovar mais frequente, considerado
168 acidental para cães, foi Shermani (40%), frequências bem inferiores foram obtidas
169 por Lemos et al. (2010), Silva et al. (2009), Aguiar et al. (2007) e Viegas et al.
170 (2001), onde o sorovar Shermani apresentou 5,4% (2/37), 3,68% (5/136), 7,5%

171 (7/90) e 0,98% (1/102) de positividade, respectivamente. O sorovar Shermani foi
172 isolado pela primeira vez do roedor selvagem *Proechimys semispinosus* no Panamá
173 em 1982 (Sulzer et al. 1982), o que sugere a possível importância dos roedores na
174 transmissão da bactéria para os cães na região metropolitana de Natal. De acordo
175 com Bolin (1996), em regiões particulares, diferentes sorovares são prevalentes e
176 associados com um ou mais hospedeiros mantenedores que servem de
177 reservatórios de infecção. Esses hospedeiros são frequentemente espécies
178 silvestres e, algumas vezes, animais domésticos e de produção.

179 O sorovar Sentot foi o segundo mais frequente com 36% das reações
180 positivas. Este sorovar também foi verificado em cães por Jouglard & Brod (2000)
181 com 7,69% (1/13) de frequência. Corrêa et al. (1964) relataram dois casos do
182 sorovar Sentot em pacientes humanos no Estado de São Paulo, os primeiros a
183 serem registrados no Brasil, e referiram que este sorovar é descrito como causador
184 de doença clínica em seres humanos. Os achados destes estudos e os resultados do
185 presente trabalho ressaltam a importância do sorovar Sentot em casos de
186 leptospirose humana, e o possível risco de transmissão entre seres humanos e
187 cães.

188 Para Mascolli et al. (2002), a ocorrência do sorovar Copenhageni,
189 identificado como o terceiro mais frequente, aponta a importância da população de
190 roedores na transmissão da doença, uma vez que os ratos e, em especial, as
191 ratazanas, são tidos como os principais reservatórios deste sorovar. Reforça-se
192 então, a necessidade de programas de controle de roedores, adotando, além das
193 medidas ofensivas (desratização), normalmente as únicas utilizadas, a inclusão de
194 modificações ambientais como medidas preventivas (anti-ratização) e a educação
195 em saúde (Batista et al. 2005).

196 Ocorreu ausência de reações para a sorovariedade Canicola, o que causou
197 surpresa, pois a mesma é reconhecidamente a mais encontrada em cães (Faine et
198 al. 1999). Este achado corrobora Azevedo et al. (2011), Batista et al. (2004) e Alves
199 et al. (2000) que também não encontraram animais positivos para essa
200 sorovariedade. Esse fato também pode ser atribuído à ampla utilização de vacinas
201 antileptospirose na região, que possuem na sua composição o sorovar Canicola.

202 Não foi observada associação entre as variáveis estudadas e a ocorrência da
203 infecção (Quadro 3), no entanto, acredita-se que o contato com roedores possa
204 representar um importante fator de risco na região, uma vez que sorovares
205 mantidos por esses animais (Shermani e Copenhageni) foram apontados entre os
206 mais frequentes. Uma explicação para a ausência de significância estatística desta
207 variável com a ocorrência da doença seria a ocorrência de viés no questionário
208 epidemiológico, uma vez que os proprietários podem se sentir constrangidos ao
209 responderem que há presença de roedores na residência, o que os leva a uma
210 possível omissão da informação.

211

212

4 - CONCLUSÃO

213

214 O perfil epidemiológico observado para a leptospirose canina na região
215 metropolitana de Natal, Estado do Rio Grande do Norte, sugere que a infecção
216 ocorre com frequência baixa em comparação com outras regiões, provavelmente
217 devido ao grande percentual de animais vacinados. Por outro lado, embora não
218 apontado estatisticamente, a presença de roedores pode ser um importante fator
219 de risco na região, uma vez que sorovares mantidos por esses animais foram
220 identificados entre os mais frequentes.

221

222 **Agradecimentos.**- Aos Médicos Veterinários Raimundo N. Alves Filho, Ademilde
223 Gomes Fernandes, Marcela Fiuza, Wilma Dantas, Renata Célis, Mônica Pires,
224 Arachelly Gurgel, Giezy F. Barbosa Junior e Cinthia Camacho pela ajuda nas
225 colheitas de sangue. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
226 Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado.

227

228

5 - REFERÊNCIAS

229

230 Acha P.N. & Szyfres B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al
231 hombre y a los animales. V. 1, 3 (ed.) Washington: Organización Panamericana
232 de la Salud. p.175-186.

233 Aguiar D.M., Cavalcante G.T., Marvulo M.F.V., Silva J.C.R., Pinter A., Vasconcellos S.A.,
234 Morais Z.M., Labruna M.B., Camargo L.M.A. & Gennari S.M. 2007. Fatores de
235 risco associados à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães do
236 município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. Arq.
237 Bras. Med. Vet. Zootec. 59:70-76.

238 Alves C.J., Andrade J.S.L., Vasconcellos S.A., Morais Z.M., Azevedo S.S. & Santos F.A.
239 2000. Avaliação dos níveis de aglutininas antileptospira em cães no município
240 de Patos – PB. Brasil. Rev. Bras. Ciênc. Vet. 7: 17-21.

241 Alves C.J., Vasconcellos S.A., Morais Z.M., Andrade J.S.L., Clementino I.J., Azevedo S.S.
242 & Santos F.A. 2003. Avaliação dos níveis de aglutininas antileptospiras em
243 gatos no município de Patos - PB. Clín. Vet. 46: 48-54.

244 Azevedo S.S., Fernandes A.R.F., Queiroga I.M.B.N., Alves C.J., Morais Z.M., Santos
245 C.S.A.B. & Vasconcellos S.A. 2011. Ocorrência e fatores de risco associados à

- 246 leptospirose em cães atendidos em hospital veterinário no semiárido
247 paraibano. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 48:161-166.
- 248 Batista C.S.A., Azevedo S.S., Alves C.J., Vasconcelos S.A., Morais Z.M., Clementino I.J.,
249 Lima F.S. & Araujo Neto J.O. 2004. Soroprevalência de leptospirose em cães
250 errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. Braz. J. Vet. Res. Anim.
251 Sci. 41: 131-136.
- 252 Batista C.S.A., Alves C.J., Azevedo S.S., Vasconcellos S.A., Morais Z.M., Clementino I.J.,
253 Alves F.A.L., Lima F.S. & Araújo Neto J.O. 2005. Soroprevalência e fatores de
254 risco para a leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. Arq. Bras. Med.
255 Vet. Zootec. 57:179-185.
- 256 Bolin C.A. 1996. Diagnosis of leptospirosis: A reemerging disease of companion
257 animals. Semin. Vet. Med. Surg. Small Anim. 11:166-171.
- 258 Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2011. Rio Grande do
259 Norte. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 20 jan. 2012.
- 260 Cole J.R., Sulzer C.R. & Pursell A.R. 1973. Improved microtechnique for the
261 leptospiral microscopic agglutination test. Appl. Microbiol. 25(6):976-980.
- 262 Corrêa M.O.A., Hyakutake S., Natale V., Tiriba A.C. & Galvão P.A.A. 1964.
263 Leptospiroses humanas ainda não assinaladas no Brasil. Rev. Inst. Med.Trop.
264 6(2):71-74.
- 265 Côrtes J.A. 1993. Epidemiologia: conceitos e princípios fundamentais. São Paulo:
266 Varela. 227p.
- 267 Faine S., Adler B., Bolin C. & Perolat P. 1999. Leptospira and leptospirosis. 2(ed.)
268 Melbourne: Medisci. 296p.

- 269 Galton M.M., Sulzer C.R., Santa Rosa C.A. & Fields M.J. 1965. Application of a
270 microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. Appl.
271 Microbiol. 13(1):81-85.
- 272 Jouglaard S.D.D. & Brod C.S. 2000. Leptospirose em cães: Prevalência e fatores de
273 risco no meio rural no Município de Pelotas RS. Arq. Inst. Biol. 67:181-185.
- 274 Langoni H., Cabral K.G. & Kronfly C.S. 1998. Pesquisa de aglutininas
275 antileptospíricas em gatos. Clín. Vet. 17:24-26.
- 276 Lemos J.P., Melo C.B. & Viegas S.A.R.A. 2010. Análise sorológica de *Leptospira* spp.
277 em cães errantes no Município de Aracaju. Rev. Cient. Eletr. Med. Vet. 14:1-16.
- 278 Lilienbaum W., Vargas R., Moraes I.A., Ferreira A.M.R. & Pissinatti A. 2005.
279 Leptospiral antibodies in captive lion tamarins (*Leontopithecus* sp) in Brazil.
280 Vet. J. 169:462-464.
- 281 Mascoll R., Pinheiro S.R., Vasconcellos S.A., Ferreira F., Morais Z.M., Pinto C.O.,
282 Sucupira M.C.A., Dias R.A., Miraglia F., Cortez A., Costa S.S., Tabata R. &
283 Marcondes A.G. 2002. Inquérito sorológico para leptospirose em cães do
284 município de Santana de Parnaíba, São Paulo, utilizando a campanha de
285 vacinação anti-rábica do ano de 1999. Arq. Inst. Biol. 69:25-32.
- 286 Merien F., Portnoi D., Bourhy P., Charavay F., Berliozarthaud A. & Baranton G. 2005.
287 A rapid and quantitative method for the detection of *Leptospira* species in
288 human leptospirosis. FEMS Microbiol. Lett. 249:139-147.
- 289 Recuero R.C., Recuero A.L.C., Rassier G., Amado M.O., Brod C.S. & Fernandes C.P.H.
290 2006. Epidemiologia sorológica da leptospirose em cães errantes da zona sul
291 do Rio Grande do Sul, Brasil. 2006. Anais XV Congresso de Iniciação Científica-
292 UFPEL, Pelotas, RS. (Resumo).

- 293 Silva W.B., Simões L.B., Padovani C. R., Langoni H., Lopes A.L.S. & Modolo J.R. 2009.
294 Inquérito sorológico e distribuição espacial da leptospirose canina em área
295 territorial urbana da cidade de Botucatu, São Paulo. Vet. Zootec. 16:656-668.
- 296 Sulzer K., Pope V. & Rogers F. 1982. New leptospiral serotypes (serovars) from the
297 Western Hemisphere isolated during 1964 through 1970. Rev. Latino-amer.
298 Microbiol. 24:15-17.
- 299 Viegas S.A.R.A., Tavares C.H.T., Oliveira E.M.D., Dias A.R., Mendonça F.F., Santos
300 M.F.P. Investigação sorológica para leptospirose em cães errantes na cidade de
301 Salvador - Bahia. 2001. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim. 2:21-30.

Legenda das Figuras

Fig.1. Mapa da região metropolitana de Natal, Estado do Rio Grande do Norte, demonstrando as 10 clínicas veterinárias particulares utilizadas.

Os Quadros

Quadro 1. Frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. de acordo com os respectivos sorovares e títulos em 365 cães da região metropolitana de Natal, Rio Grande do Norte, no período de março a novembro de 2011

Sorovar	Título de anticorpos						Total (%)
	100	200	400	800	1600	3200	
Shermani	0	3	0	1	4	2	10 (40%)
Sentot	0	1	3	1	1	3	9 (36%)
Copenhageni	2	2	0	0	1	0	5 (20%)
Grippotyphosa	0	1	0	0	0	0	1 (4%)
Total	2	7	3	2	6	5	25 (100%)

Quadro 2. Frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. de acordo com a clínica e respectivos sorovares em 365 cães da região metropolitana de Natal, Rio Grande do Norte, no período de março a novembro de 2011

Clínica Veterinária	Nº de animais utilizados	Nº de animais positivos (%)	Sorovares encontrados	Localização
A	122	13 (52%)	Shermani, Sentot, Copenhageni	Zona Sul
B	48	3 (12%)	Sentot, Copenhageni	Zona Sul
C	36	1 (4%)	Shermani	Zona Sul
D	28	1 (4%)	Sentot	Zona Oeste
E	10	0 (0%)	-	Zona Oeste
F	6	1 (4%)	Shermani	Zona Leste
G	79	2 (8%)	Shermani, Grippotyphosa	Zona Norte
H	18	1(4%)	Sentot	Zona Norte
I	8	2(8%)	Shermani, Copenhageni	Zona Norte
J	10	1(4%)	Sentot	Zona Norte
Total	365	25 (6,8%)

Quadro 3. Associação entre variáveis epidemiológicas e ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em 365 cães da região metropolitana de Natal, Rio Grande do Norte, no período de março a novembro de 2011

Variável	Categoria	Nº total de animais	Nº de animais soropositivos (%)	P
Escolaridade do proprietário	1º Grau incompleto	2	0 (0)	0,849
	1º Grau completo	3	0 (0)	
	2º Grau incompleto	13	2 (15,4)	
	2º Grau completo	155	10 (6,5)	
	3º Grau incompleto	20	1 (5)	
Sexo dos animais	Macho	164	14 (8,5)	0,345
	Fêmea	201	11 (5,5)	
Idade dos animais	3 – 12 meses	45	1 (2,2)	0,320
	13 – 48 meses	126	7 (5,6)	
	49 – 72 meses	55	6 (10,9)	
	> 72 meses	139	11 (7,9)	
Raça	Sem raça definida	86	5 (5,8)	0,849
	Com raça definida	274	20 (7,2)	
Tipo de criação	Domiciliar	327	23 (7)	0,788
	Semi-domiciliar	32	2 (6,3)	
	Solto	6	0 (0)	
Alimentação	Ração comercial	230	18 (7,8)	0,567
	Comida caseira	12	1 (8,3)	
	Ração + comida caseira	123	6 (4,9)	
Vacinação	Não	30	0 (0)	0,247
	Sim	335	25 (7,5)	
Passear com os cães	Não	184	12 (6,5)	0,966
	Sim	181	13 (7,2)	
Viajar com os cães	Não	308	23 (7,5)	0,396
	Sim	57	2 (3,5)	
Contato com outros cães	Não	149	13 (8,7)	0,333
	Sim	216	12 (5,6)	
Contato com roedores	Não	219	18 (8,2)	0,290
	Sim	146	7 (4,8)	
Contato com açudes	Não	316	23 (7,3)	0,553
	Sim	49	2 (4,1)	

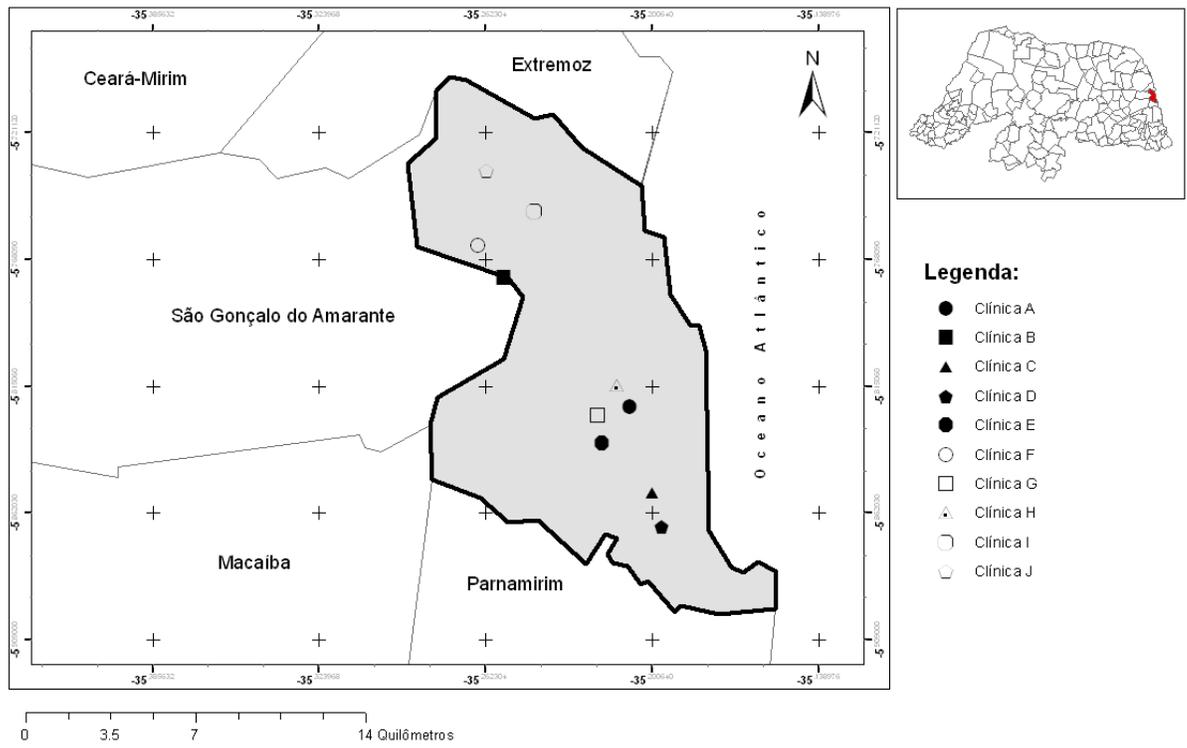


Figura 1

1 **CONCLUSÕES GERAIS**

2

3 - A frequência de anticorpos anti-*Brucella canis* no município de Natal, Estado do Rio
4 Grande do Norte e região metropolitana ocorreu em um nível relativamente alto
5 (28,85%). O relevante percentual de soropositivos oriundos de canis comerciais e/ou
6 criações informais sugere que um maior controle da doença seja realizado nesses
7 estabelecimentos.

8

9 - O perfil epidemiológico observado para a leptospirose canina na região, sugere que a
10 infecção ocorre com frequência baixa em comparação com outras localidades. O grande
11 percentual de animais vacinados pode ter contribuído pra esta evidência.

12

13 - Desse modo, a determinação do perfil epidemiológico e monitoramento de zoonoses
14 em determinada região permite um melhor direcionamento nas ações e medidas de
15 controle que já foram ou que possam ser estabelecidas.

APÉNDICE

