

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

Maria das Graças da Silva Bernardino

Investigação epidemiológica de zoonoses de importância em saúde única em
cães na Microrregião do Brejo Paraibano

Patos, PB
2020

Maria das Graças da Silva Bernardino

Investigação epidemiológica de zoonoses de importância em saúde única em
cães na Microrregião do Brejo Paraibano

Tese submetida ao Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Saúde
Animal, da Universidade Federal de
Campina Grande, como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutor em Ciência e Saúde Animal.

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo
Orientador

Patos/PB
2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

- B523i Bernardino, Maria das Graças da Silva
Investigação epidemiológica de zoonoses de importância em saúde única em cães na Microrregião do Brejo Paraibano / Maria das Graças da Silva Bernardino. – Patos, 2020.
70f.

Tese (Doutorado em Ciência e Saúde Animal) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2020.

“Orientação: Prof. Dr. Sergio Santos de Azevedo.”

Referências.

1. Leishmaniose visceral canina. 2. Leptospirose. 3. Brucella abortus.
4. Brucella canis. 5. Brucelose. 6. Saúde Pública I. Título.

CDU 576.8:619


UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

MARIA DAS GRAÇAS DA SILVA BERNARDINO

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de doutora em Ciência e Saúde Animal.

APROVADO EM 21/02/2020

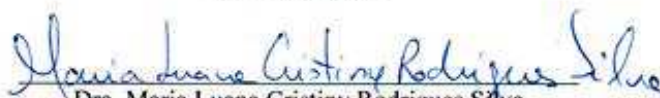
EXAMINADORES



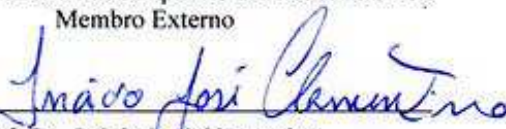
Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG
Presidente (Orientador)



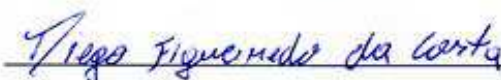
Prof. Dr. Carolina de Sousa Américo Batista Santos
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG
Membro Externo



Dra. Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva
Universidade Federal de Campina Grande/CSTR/UFCG
Membro Externo



Prof. Dr. Inácio José Clementino
Departamento de Ciências Veterinárias/CCA/UFPB – Areia/PB
Membro Externo



Dr. Diego Figueiredo da Costa
Universidade Federal da Paraíba/UFPB
Membro Externo

Dedico este trabalho a Deus, por me sustentar durante essa jornada. Ao meu esposo, Edijanio e ao meu filho Valentin por todo o incentivo, amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por me fortalecer nos momentos mais difíceis, me dando forças para vencer os obstáculos que surgiram na minha caminhada.

Ao meu pai, Manoel, que foi o meu maior incentivador aqui na Terra e agora está no céu olhando por mim. Saiba que tudo o que estou colhendo agora é resultado do que o senhor plantou na minha formação. Te agradeço por todo apoio e por sempre acreditar no meu potencial.

A minha mãe Severina e a minha irmã Bruna, que por muitas vezes vieram me socorrer para que eu pudesse desenvolver a minha tese. Sei que posso contar sempre com vocês, muito obrigada!

Ao meu marido Edijanio, meu grande amigo e companheiro! Sem você não teria conseguido chegar até aqui! Essa é uma conquista da nossa família!

Ao meu pequeno guerreiro Valentim, que embora tão pequeno tem uma grande força de superar batalhas junto com a mamãe e o papai. O amor que a mamãe sente por você é do tamanho do Universo!

Um obrigado especial, ao meu orientador Sérgio Azevedo, por toda a paciência e dedicação durante a confecção dessa tese.

A Coordenação do Programa de Pós-graduação em Saúde e Ciência Animal pela oportunidade de fazer parte deste curso e a todos os docentes que contribuíram para a ampliação dos meus conhecimentos. Em especial, a professora Márcia e aos professores Silvano e Fernando Vaz, muito obrigada por todos os ensinamentos.

Ao Laboratório de Doenças Transmissíveis da Universidade Federal de Campina Grande, por me dar condições para que este trabalho pudesse ser realizado com sucesso. Em especial, Dona Francinete por todo o apoio e colaboração prestado no dia a dia do laboratório.

Aos colegas que me auxiliaram na execução do trabalho, Denise Batista, Débora Angelo, Arthur Nóbrega, Vanda Jales e Raizza Barros, sem vocês a realização desse trabalho não seria possível!

Aos proprietários dos animais amostrados que gentilmente consentiram em participar desse estudo.

Agradeço a todos aqueles que, de alguma maneira, colaboraram para a realização desse trabalho.

RESUMO

A estreita relação entre o homem e o cão doméstico (*Canis familiaris*) pode trazer uma série de implicações na saúde pública, uma vez que o animal pode ser responsável pela transmissão de várias zoonoses. Em virtude disso, o presente trabalho teve como proposta determinar indicadores epidemiológicos para leishmaniose visceral, leptospirose e brucelose na população canina da microrregião do Brejo paraibano, Nordeste do Brasil. No período de maio a outubro, foram amostrados 415 cães dos oito municípios da microrregião: Alagoa Grande (n = 101), Areia (n = 79), Bananeiras (n = 72), Alagoa Nova (n = 73), Serraria (n = 25), Pilões (n = 25), Borborema (n = 20) e Matinhas (n = 20). Os tutores dos cães amostrados responderam a um questionário epidemiológico, sendo obtidas informações sobre os animais, proprietário, residência e criação dos cães. O diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC) foi realizado com o imunoenzimático (kit ELISA S7[®]). Para leptospirose foi realizada a prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM), utilizando-se uma coleção de 23 sorovares antígenos patogênicos e adotando como ponto de corte a diluição 1:50. Para a pesquisa de anticorpos anti-*B. canis* foi realizado a Imunodifusão em gel de ágar (IDGA) como triagem e IDGA+ME como confirmatório. Para a pesquisa de anticorpos anti-*B. abortus* foi realizada a técnica de Antígeno Acidificado Tamponado (AAT). Das 409 amostras testadas para LVC, 120 foram sororreagentes, resultando em uma prevalência de 29%. Das 414 amostras testadas para leptospirose, 52 cães foram sororreagentes, resultando em uma prevalência aparente de 12,6% e uma prevalência real de 12,2%. Os cães foram reativos para o sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* (76,9%), *Autumnalis* (13,55%), *Pomona* (3,8%), *Grippotyphosa* (3,8%) e *Serjoe* (1,9%). Os títulos de anticorpos variaram de 50 a 800. Das 386 amostras examinadas para soropositividade por *B. canis*, 99 amostras foram reagentes no IDGA, das quais 30 foram positivas no IDGA+ME, constatando uma prevalência aparente de 7,8% e prevalência real de 12,6%. Das 366 amostras examinadas para soropositividade por *B. abortus*, 94 foram reagentes no AAT, observando uma prevalência aparente de 25,7% e prevalência real de 22,8%. A análise de risco para a LVC indicou dois fatores associados com a soropositividade, incluindo o analfabetismo do proprietário ou com ensino fundamental incompleto (RP = 1,57; P = 0,027) e infestação de carrapatos (RP = 1,82; P = 0,001). Para leptospirose, foram detectados seis fatores associados à soropositividade, incluindo o período chuvoso (RP = 1,94; P = 0,013), cães machos (RP = 2,10; P = 0,005), animais com idade maior que cinco anos (RP = 4,21; P = 0,012), consumo de água não tratada (RP = 1,87; P = 0,043), cães com livre acesso à rua (RP = 2,15; P = 0,011) e contato com animais silvestres (RP = 3,54; P = 0,050). Os fatores associados com a soropositividade para *B. canis*, foram a idade maior que 10 anos (RP = 6,38; P = 0,024) e cães criados presos no quintal (RP = 5,20; P = 0,035) e para *B. abortus*, foi não trocar a água dos animais todos os dias (RP = 1,48; P = 0,033). Conclui-se que a soroprevalência da leishmaniose visceral, leptospirose e brucelose na população canina da microrregião Brejo Paraibano é alta e alertam para que haja o desenvolvimento de medidas de controle e prevenção na espécie, tendo em vista, o risco de infecção para outras espécies animais e humanos.

PALAVRAS-CHAVE: Leishmaniose visceral canina, leptospirose, *Brucella abortus*, *Brucella canis*, brucelose, saúde pública.

ABSTRACT

The close relationship between man and the domestic dog (*Canis familiaris*) can have a number of implications for public health, since the animal may be responsible for the transmission of various zoonoses. Because of this, the present work had as proposal to determine epidemiological indicators for visceral leishmaniasis, leptospirosis and brucellosis in the canine population of the Brejo Paraibano microregion, Northeast Brazil. In the period from May to October, 415 dogs were sampled from the eight municipalities of the microregion: Alagoa Grande (n = 101), Areia (n = 79), Bananeiras (n = 72), Alagoa Nova (n = 73), Sawmill (n = 25), Pylons (n = 25), Borborema (n = 20) and Matinhas (n = 20). The tutors of the sampled dogs answered an epidemiological questionnaire, obtaining information about the animals, owner, residence and breeding of the dogs. The diagnosis of canine visceral leishmaniasis (CVL) was performed with the enzyme immunoassay (ELISA kit S7®). For leptospirosis, was performed the Microscopic Seroagglutination test (MAT), using a collection of 23 serovar pathogenic antigens and using the 1:50 dilution as the cutoff point. For the search antibodies for *Brucella canis* was performed the Immunodiffusion on agar gel (AGID) as a screening and AGID+ME as confirmatory. For the search antibodies for *Brucella abortus* was performed using the buffered acid antigen technique (AAT). Of the 409 samples tested for LVC, 120 were seroreactive, resulting in a prevalence of 29%. Of the 414 samples tested for leptospirosis, 52 dogs were seroreactive, resulting in an apparent prevalence of 12.6% and an actual prevalence of 12.2%. The dogs were reactive for the serogroup Icterohaemorrhagiae (76.9%), Autumnalis (13.55%), Pomona (3.8%), Grippotyphosa (3.8%) and Serjoe (1.9%). Antibody titers ranged from 50 to 800. Of the 386 samples examined for seropositivity by *B. canis*, 99 samples were reactive at AGID, of which 30 were positive at AGID + ME, showing an apparent prevalence of 7.8% and actual prevalence 12.6%. Of the 366 samples examined for seropositivity by *B. abortus*, 94 were reactive in AAT, observing an apparent prevalence of 25.7% and an actual prevalence of 22.8%. The risk analysis for CVL indicated two factors associated with seropositivity, including the illiteracy of the owner or with incomplete primary education (PR = 1.57; P = 0.027) and tick infestation (PR = 1.82; P = 0.001). For leptospirosis, six factors associated with seropositivity were detected, including the rainy season (PR = 1.94; P = 0.013), male dogs (PR = 2.10; P = 0.005), animals older than five years (PR = 4.21; P = 0.012), consumption of untreated water (PR = 1.87; P = 0.043), dogs with free access to the street (PR = 2.15; P = 0.011) and contact with wild animals (PR = 3.54; P = 0.050). The factors associated with seropositivity for *B. canis* were age greater than 10 years (PR = 6.38; P = 0.024) and dogs bred in the yard (PR = 5.20; P = 0.035) and for *B. abortus*, was not to change the water of the animals every day (PR = 1.48; P = 0.033). It is concluded that the seroprevalence of visceral leishmaniasis, leptospirosis and brucellosis in the canine population of the Brejo Paraibano microregion is high and alert for the development of control and prevention measures in the species, in view of the risk of infection for other animal species and humans.

KEY-WORDS: Canine visceral leishmaniasis, leptospirosis, *Brucella abortus*, *Brucella canis*, brucellosis, public health.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I - High seroprevalence and associated factors for visceral leishmaniasis in dogs in a transmission area of Paraíba state, Northeastern Brazil

| | Página |
|--|---------------|
| TABLE 1 - Numbers of inhabitants, minimum number of dogs to be sampled, sampled dogs and positive animals in each municipality of the Brejo Paraibano microregion. | 32 |
| TABLE 2 - Univariable analysis on the factors associated with seroprevalence for visceral leishmaniasis among dogs in the Brejo Paraibano microregion. | 33 |
| TABLE 3 - Factors associated with seroprevalence for visceral leishmaniasis among dogs in the Brejo Paraibano microregion, determined using robust Poisson regression analysis. | 35 |

CAPÍTULO II - Cross-sectional survey for canine leptospirosis in an Atlantic Rainforest area of the semiarid of Paraíba state, Northeastern Brazil

| | Página |
|--|---------------|
| TABLE 1 - Numbers of inhabitants, minimum number of dogs to be sampled, sampled dogs, positive animals in each municipality and sorogrupos detected in the Brejo Paraibano microregion. | 48 |
| TABLE 2 - Frequency of anti- <i>Leptospira</i> antibodies according to sorogrupo detected in 52 dogs in the Brejo Paraibano microregion, from May to October 2017. | 49 |
| TABLE 3 - Univariable analysis on the factors associated with seroprevalence for leptospirosis among dogs in the Brejo Paraibano microregion. | 50 |
| TABLE 4 - Factors associated with seroprevalence for leptospirosis among dogs in the Brejo Paraibano microregion, determined using robust Poisson regression analysis. | 51 |

CAPÍTULO III - Zoonotic smooth and rough *Brucella* in dogs: seroprevalence and associated factors in an Atlantic Rainforest area of the state of Paraíba, Northeastern Brazil

| | Página |
|--|---------------|
| TABELA 1 - Número de habitantes, número mínimo de cães a serem amostrados, cães amostrados, animais positivos para <i>Brucella canis</i> e <i>Brucella abortus</i> em cada município da microrregião Brejo Paraibano. | 66 |
| TABELA 2 - Análise univariada dos fatores associados ($P < 0,20$) à soroprevalência de <i>Brucella canis</i> e <i>Brucella abortus</i> em cães da microrregião Brejo Paraibano. | 67 |
| TABELA 3 - Fatores associados à soroprevalência para <i>B. canis</i> e <i>B. abortus</i> em cães da microrregião Brejo Paraibano, determinados pela análise de regressão de Poisson robusta. | 68 |

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I - High seroprevalence and associated factors for visceral leishmaniasis in dogs in a transmission area of Paraíba state, Northeastern Brazil

| | Página |
|--|---------------|
| FIGURE 1 - Geographic representation of the municipalities of Brejo Paraibano microregion, Brazil, and the seroprevalences for visceral leishmaniasis in dogs between May and October 2017. | 31 |

CAPÍTULO II - Cross-sectional survey for canine leptospirosis in an Atlantic Rainforest area of the semiarid of Paraíba state, Northeastern Brazil

| | Página |
|---|---------------|
| FIGURE 1 - Geographic representation of the municipalities in the Brejo paraibano microrregião, Brazil that had their dogs sampled between May and October 2017 and the respective frequencies of seropositive dogs for Leptospirosis. | 47 |

CAPÍTULO III - Zoonotic smooth and rough *Brucella* in dogs: seroprevalence and associated factors in an Atlantic Rainforest area of the state of Paraíba, Northeastern Brazil

| | Página |
|---|---------------|
| FIGURA 1 - Representação geográfica dos municípios da microrregião Brejo paraibano, Brasil que tiveram seus cães amostrados entre maio e outubro de 2017 e as respectivas frequências de cães soropositivos para <i>Brucella canis</i> e <i>Brucella abortus</i> . | 65 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------|--|
| AAT | Antígeno Acidificado Tamponado |
| AESA | Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba |
| ELISA | Ensaio imunoenzimático |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| IDGA | Imunodifusão em gel de ágar |
| IDGA+ME | Imunodifusão em gel de ágar + 2-mercaptoetanol |
| LV | Leishmaniose visceral |
| LVC | Leishmaniose visceral canina |
| OIE | Organização Mundial de Saúde Animal |
| P | probabilidade de significância |
| RP | razão de prevalência |
| SAM | Soroaglutinação Microscópica |
| SINAN | Sistema de Informação de Agravos de Notificação |
| WHO | World Health Organization |

SUMÁRIO

| | Página |
|--|---------------|
| RESUMO | 07 |
| ABSTRACT | 08 |
| INTRODUÇÃO GERAL | 18 |
| CAPÍTULO I - High seroprevalence and associated factors for visceral leishmaniasis in dogs in a transmission area of Paraíba state, Northeastern Brazil | 19 |
| ABSTRACT | 19 |
| RESUMO | 20 |
| 1 INTRODUCTION | 20 |
| 2 MATERIAL AND METHODS | 21 |
| 3 RESULTS | 23 |
| 4 DISCUSSION | 24 |
| 5 CONCLUSION | 26 |
| 6 REFERENCES | 27 |
| CAPÍTULO II - Cross-sectional survey for canine leptospirosis in an Atlantic Rainforest area of the semiarid of Paraíba state, Northeastern Brazil | 36 |
| ABSTRACT | 37 |
| RESUMO | 37 |
| 1 INTRODUCTION | 38 |
| 2 MATERIAL AND METHODS | 38 |
| 3 RESULTS | 40 |
| 4 DISCUSSION | 40 |
| 5 CONCLUSIONS | 42 |
| 6 REFERENCES | 42 |

| | Página |
|--|---------------|
| CAPÍTULO III - Zoonotic smooth and rough <i>Brucella</i> in dogs: seroprevalence and associated factors in an Atlantic Rainforest area of the state of Paraíba, Northeastern Brazil | 52 |
| ABSTRACT..... | 53 |
| RESUMO | 54 |
| 1 INTRODUÇÃO | 54 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 55 |
| 3 RESULTADOS | 58 |
| 4 DISCUSSÃO | 58 |
| 5 CONCLUSÃO | 60 |
| 6 REFERÊNCIAS | 60 |
| CONCLUSÃO GERAL | 69 |
| ANEXOS | 70 |

INTRODUÇÃO GERAL

A relação entre o homem e o cão doméstico (*Canis familiaris*) teve início desde os primórdios e perdura até hoje, sendo notório o crescente número de lares com cães de estimação. No Brasil, cerca de 44% das residências possuem pelo menos um cão (IBGE, 2020). Antigamente, os cães eram utilizados principalmente para a proteção das pessoas e para a caça, mas hoje está cada vez mais inserido no ambiente familiar, possuindo estreita relação sentimental com o homem e sendo considerado como um membro da família. O contato próximo entre o cão e o homem, especialmente crianças, idosos e gestantes promove grande preocupação quanto a sanidade desses animais, tendo em vista que podem ser fonte de várias doenças infecciosas que podem ser transmitidas para a população humana (OIE, 2019).

A Saúde Única representa uma visão integrada entre a saúde humana, animal e ambiental, associado à adoção de políticas públicas eficazes para a prevenção e controle de doenças nos níveis local, regional, nacional e global (OIE, 2019). Além disso, esse conceito reconhece que o homem faz parte de um ecossistema vivo, onde qualquer desequilíbrio nos pilares saúde do homem, animal e ambiental pode provocar a propagação de doenças. Diante disso, estudos com cães podem fornecer informações importantes para vários problemas que afetam a saúde humana, sendo considerados como sentinelas para a identificação de áreas sob maior risco de transmissão de agentes infecciosos para humanos (BOWSER; ANDERSON, 2018).

Dentre as zoonoses que podem ser transmitidas por cães destacam-se a leishmaniose visceral (LV), tendo em vista que o Brasil é o segundo país com maior número de notificações em humanos (WHO, 2019) e por ser uma doença de difícil controle, pois ainda não existe tratamento eficaz para a eliminação do parasito nos hospedeiros. Além da LV, destaca-se a leptospirose que possui *status* endêmico no Brasil (SINAN, 2019) e a brucelose que se trata de uma doença negligenciada e subnotificada, principalmente devido a inespecificidade dos sinais clínicos, fazendo com que seja facilmente confundida com outras doenças (BRASIL, 2020). Associado a isso, estudos mostram que o cão é um reservatório importante no meio urbano para os agentes infecciosos causadores da LV, leptospirose e brucelose (KEID et al., 2017; WARETH et al., 2017; MIOTTO et al., 2018; DIAS et al., 2019), os quais, muitas vezes podem desenvolver a forma assintomática da doença, dificultando o diagnóstico e consequentemente impedindo o tratamento dos animais infectados.

A prevalência dessas doenças pode ser influenciada por vários fatores, incluindo a distribuição geográfica, fatores climáticos e socioeconômicos, e nesse contexto é importante a

realização de pesquisas epidemiológicas em diferentes locais. A partir disso, ressalta-se que na microrregião do Brejo paraibano não há informações disponíveis sobre a prevalência da LV, leptospirose e brucelose nos animais de estimação. Além disso, a microrregião em estudo pode ser considerada uma área de transmissão, pois apresenta características específicas que podem influenciar na ocorrência dessas doenças, incluindo a presença de remanescentes da Mata Atlântica de alta altitude (PORTO et al., 2004), alta pluviosidade (AESAs, 2019) e vasta fauna de animais silvestres que podem atuar como reservatórios de vários agentes infecciosos. Por isso, a determinação da prevalência, distribuição e identificação dos fatores associados de tais enfermidades é de fundamental importância para o planejamento de estratégias de controle e prevenção que visem o bloqueio da transmissão dos agentes para animais e seres humanos, de maneira que a presente proposta foi formulada com o intuito de determinar indicadores epidemiológicos para as citadas enfermidades na população canina da Microrregião do Brejo Paraibano.

A presente Tese possui três capítulos e cada capítulo é constituído por um artigo original. O Capítulo I é referente a um artigo submetido ao periódico *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, Qualis A2 e descreve um estudo de soroprevalência da leishmaniose visceral e os fatores associados na microrregião do Brejo paraibano, Nordeste do Brasil. O Capítulo II é composto por um artigo que será submetido à *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Qualis A2 e descreve um estudo transversal sobre a leptospirose na população canina da microrregião Brejo Paraibano, semiárido do Nordeste do Brasil. O Capítulo III é composto por um artigo que será submetido à revista *Semina: Ciências Agrárias*, Qualis B1 e descreve um estudo de soroprevalência para *B. canis* e *B. abortus* na população canina da microrregião do Brejo paraibano e os fatores associados com a soropositividade.

REFERÊNCIAS

- AESA. Agência Executiva de Gestão das Águas. **Meteorologia – Chuvas**. Disponível em: <<http://www.aesa.pb.gov.br/aesa-website/meteorologiachuvas/?formdate=2019-02-10&produto=microrregiao&periodo=personalizado>> Acesso em: 10 Fev 2019.
- BOWSER, N.H.; ANDERSON, N.E. Dogs (*Canis familiaris*) as Sentinels for Human Infectious Disease and Application to Canadian Populations: A Systematic Review. **Veterinary Sciences**, v. 5, n. 4, p. 1-24, 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Brucelose Humana: causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção**. Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/brucelose-humana>> Acesso em: 06 Fev 2020.
- DIAS, R.C.F. et al. Autochthonous canine visceral leishmaniasis cases occur in Paraná state since 2012: isolation and identification of *Leishmania infantum*. **Revista Brasileira de Parasitologia veterinária**, 2019.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saúde: **Domicílios com algum cachorro, total, percentual e coeficiente de variação, por situação do domicílio**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/4930>> Acesso em: 06 Fev 2020.
- KEID, L.B. et al. *Brucella Canis* Infection in Dogs From Commercial Breeding Kennels in Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 64, n. 3, p. 691-7, 2017.
- MIOTTO, B.A. et al. Diagnosis of acute canine leptospirosis using multiple laboratory tests and characterization of the isolated strains. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 1-22, 2018.
- OIE - **World Organisation for Animal Health**. 2019. Available from: <<https://www.oie.int/>> Acesso em: 06 Fev 20.
- SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação. **Dados epidemiológicos Sinan: Doenças e Agravos de Notificação - De 2007 em diante**. Disponível: <<http://portalsinan.saude.gov.br/dados-epidemiologicos-sinan>> Acesso em: 26 Mar 2019.
- PORTO, K.C.; CABRAL, J.J.P.; TABARELLI, M. **Brejos de altitude em Pernambuco e Paraíba: história natural, ecologia e conservação**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004. 324 p. Disponível em: <http://www.terrabrasil.org.br/ecotecadigital/pdf/brejos-de-altitude-empernambuco-e-paraiba-.pdf>. Acesso em: 26 Mar 2019.
- RODRIGUES, R.T.G.A. et al. Brucelose canina: uma revisão prática para o clínico veterinário de pequenos animais. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 11, n. 2, p. 216-32, 2017.
- WARETH, G. et al. Isolation of *Brucella Abortus* From a Dog and a Cat Confirms Their Biological Role in Re-emergence and Dissemination of Bovine Brucellosis on Dairy Farms. **Transboundary and Emerging Diseases**, 64 (5), e27-e30, 2017.
- WHO - World Health Organization. **Leishmaniasis: background information**. 2019 Disponível em: <https://www.who.int/leishmaniasis/disease/en/>. Acesso em: 26 Mar 2019.

CAPÍTULO I

High seroprevalence and associated factors for visceral leishmaniasis in dogs in a transmission area of Paraíba state, Northeastern Brazil

(Brazilian Journal of Veterinary Parasitology, Qualis/CAPES: A2, Impact Factor: 1,013)

High seroprevalence and associated factors for visceral leishmaniasis in dogs in a transmission area of Paraíba state, Northeastern Brazil

Alta soroprevalência e fatores associados da leishmaniose visceral canina em área de transmissão do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil

Maria das Graças da Silva Bernardino¹; Débora Ferreira do Santos Angelo²; Raizza Barros Sousa Silva¹; Edijanio Galdino da Silva¹; Laysa Freire Franco e Silva¹; Antônio Fernando de Melo Vaz¹; Marcia Almeida de Melo¹; Carolina de Sousa Américo Batista Santos¹; Clebert José Alves¹; Sérgio Santos de Azevedo^{1*}

¹Programa de Pós-graduação em Ciência e Saúde Animal, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Patos, PB, Brasil

²Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba – UFPB, Areia, PB, Brasil

Abstract

Dogs have been implicated as main reservoirs for visceral leishmaniasis (VL) in urban areas. Therefore, studies on this species provide important data for public health. Thus, the objective of the present study was to ascertain the seroprevalence of canine VL (CVL) and the associated factors in the Brejo Paraibano microregion, northeastern Brazil. A total of 409 dogs were sampled from the eight municipalities of the microregion: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões and Serraria. The diagnosis of CVL was made using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA S7®), through which the prevalence observed was 29.3%. By robust Poisson regression analysis two factors were associated with seroprevalence: illiterate/incomplete elementary owner's education level (prevalence ratio = 1.57; 95% CI = 1.05–2.34; P = 0.027) and tick infestation (prevalence ratio = 1.82; 95% CI = 1.27–2.61; P = 0.001). It is concluded that the seroprevalence of CVL in the Brejo Paraibano microregion is high. The factors associated with seroprevalence indicated the importance to develop socioeducational actions on the population, and the

* **Corresponding author:** Sérgio Santos de Azevedo. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Tecnologia de Saúde Tecnologia Rural (CSTR). Avenida Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB, Brasil. CEP: 58708-110, Brasil. [sergio@vps.fmvz.usp.br - Tel.: +55 (83) 3511-3000]

finding that tick infestation was associated with seroprevalence shows that there is a need for investigation regarding the role of ticks in the epidemiology of CVL.

Keywords: *Leishmania infantum*, zoonosis, public health, epidemiology.

Resumo

Os cães são apontados como principais reservatórios da leishmaniose visceral (LV) em áreas urbanas. Portanto, estudos com essa espécie fornecem dados importantes para a saúde pública. Assim, o objetivo do presente estudo foi determinar a soroprevalência da leishmaniose visceral canina (LVC) e os fatores associados na microrregião do Brejo Paraibano, Nordeste do Brasil. Foram amostrados 409 cães dos oito municípios da microrregião: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões e Serraria. O diagnóstico de LVC foi realizado com o ensaio imunoenzimático (kit ELISA S7®), através do qual a prevalência observada foi de 29,3%. Pela análise de regressão de Poisson robusta, dois fatores foram associados à soroprevalência: proprietário analfabeto ou com ensino fundamental incompleto (razão de prevalência = 1,57; IC 95% = 1,05-2,34; P = 0,027) e infestação de carrapatos (razão de prevalência = 1,82; IC 95% = 1,27-2,61; P = 0,001). Conclui-se que a soroprevalência da LVC na microrregião Brejo Paraibano é alta. Os fatores associados à soroprevalência indicaram a importância do desenvolvimento de ações socioeducativas na população, e a associação da infestação de carrapatos com a soroprevalência mostra que há necessidade de investigação sobre o papel dos carrapatos na epidemiologia da LVC.

Palavras-chave: *Leishmania infantum*, zoonose, saúde pública, epidemiologia.

Introduction

Visceral leishmaniasis (VL) is an infectious disease that presents zoonotic characteristics and is caused by the protozoon *Leishmania infantum* (KUHLS et al., 2011). It is a systemic disease that usually presents chronically and, when untreated, it may evolve to death in over 90% of cases (BRASIL, 2016).

Among the hosts susceptible to infection, domestic dogs (*Canis familiaris*) and humans stand out. Dogs have been implicated as the main reservoir in urban areas (BRASIL, 2016). The fact that humans live together with domestic dogs in a close sentimental relationship may therefore have a series of implications for public health. Another important

factor within the epidemiology of this disease is that approximately 40-60% of seropositive dogs present the asymptomatic form (BRASIL, 2016), which favoring maintenance of reservoirs of this disease. In addition, no effective treatment that promotes elimination of parasites from infected hosts exists yet, thus making this disease difficult to control. Therefore, studies on dogs present predictive value for understanding the epidemiology of this disease in humans and other animal species (BOAZ et al., 2018). It is essential to have the means to indicate disease prevalence and identify risk factors, in order to plan control and prevention strategies.

VL presents endemic characteristics in several countries, and Brazil has the second highest number of notifications (WHO, 2019). Among the cases confirmed in this country, over 40% occur in the northeastern region (SINAN, 2017). In the state of Paraíba, recent studies have indicated the importance of dogs as a reservoir for VL, with seroprevalence values that ranged from 2.8 to 38.6% (FERNANDES et al., 2016; SILVA et al., 2016; SILVA et al., 2017; SILVA et al., 2018; BRASIL et al., 2018). However, there is a lack of epidemiological studies on the population of dogs in the Brejo Paraibano microregion. This region presents specific characteristics that may influence occurrences of this disease, including the presence of remnants of the Atlantic Rainforest (PORTO et al., 2004) and high rainfall (AESAs, 2019). Therefore, the objective of the present study was to ascertain the seroprevalence of canine visceral leishmaniasis (CVL) and the associated factors in dogs in the Brejo Paraibano microregion.

Material and Methods

The present study was approved by the Research Ethics Committee of the Rural Healthcare and Technology Center of the Federal University of Campina Grande, under protocol no. 025/2017.

This study was conducted on dogs living in the urban area of the Brejo Paraibano (“Paraíba marshes”) microregion, in the state of Paraíba, Northeastern Brazil, which consists of eight municipalities, namely: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões and Serraria. Its territorial area is 840,452 km², with a population of 116,488 inhabitants (IBGE, 2010) and mean rainfall of 11,091.9 mm over the past 10 years (AESAs, 2019). This microregion presents Atlantic Rainforest biomes that appear in high-altitude sectors, called high-altitude marshes (PORTO et al., 2004).

In order to define the minimum number of animals to be sampled, a formula for simple random samples was used (THRUSFIELD, 2007), considering the following parameters: expected prevalence of 50% (sample maximization), confidence level of 95% ($z = 1.96$) and statistical error of 5%, which resulted in a minimum sample size of 384 dogs. In the end, 409 dogs older than three months of age, of both sexes and various breeds were used. The minimum number of dogs to be sampled in each municipality of the microregion was defined proportionally according to the number of inhabitants (Table 1).

The field work was conducted by a trained team through home visits to the residents of the microregion. The dogs' owners were given explanations about the objectives of the study and, after agreeing to participate, signed a free and informed consent statement. Sampling was done from May to October 2017. The animals were clinically examined and, concomitantly, a clinical examination form was filled in to record the findings from each individual. The animals' level of consciousness, posture, locomotion, nutritional state, rectal temperature, mucosal condition, state of hydration, lymph node condition and haircoat condition were assessed, and any complaints about clinical signs noticed by the owners were also recorded. From each animal a blood sample was collected, and after removal of the coagulum the serum was transferred to 1.5-mL microtubes and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until the time of the serological tests.

A questionnaire was applied to the owners to obtain data to be used in the analysis of factors associated with seroprevalence. The variables and respective categories considered in the questionnaire were:

- (a) Information about the dog: sex (male, female), breed (without defined breed, with defined breed) and age (up to 1 year, between 1-5 years, over 5 years);
- (b) Information about owner and residence: educational level (illiterate/incomplete primary education, completed elementary school), family income (up to 1 minimum wage, between 1-2 minimum wages, more than 2 minimum wages), type of water for consumption (treated, untreated), disposal of garbage (public collection, vacant lots or on the streets) and presence of mosquitoes (yes, no);
- (c) Characteristics of animal husbandry: condition of housing (at home without access to streets, at home with access to streets, free access to streets), do you clean the animals' environment daily (yes, no), dog food (commercial, commercial + homemade), type of water

for dog consumption (treated, untreated), do you wash your animals? (yes, no), tick infestation (yes, no), adequate ectoparasite control (yes, no), deworming (yes, no), does a veterinarian evaluate your animals regularly? (yes, no), animal with access to vacant lots (yes, no), contact with cats (yes, no), contact with small ruminants (yes, no), contact with cattle (yes, no), contact with horses (yes, no) and contact with wildlife (yes, no).

The serological diagnosis of VL in dogs was made using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA S7®, Biogene Indústria e Comércio Ltda., Recife-PE, Brazil). This ELISA test is based on the recombinant carboxy-terminal fraction of the HSP70 protein. It presents mean sensitivity of 89%, with the capacity to reach 96.4%, and mean specificity of 94.3%, with the capacity to reach 100%. The test was conducted in accordance with the manufacturer's recommendations, in the Molecular Biology Laboratory of the Semiarid Region, at the Rural Healthcare and Technology Center of the Federal University of Campina Grande, Patos-PB.

The information obtained through the clinical examinations, epidemiological questionnaires, blood tests and serological tests were stored in a database that was created using the Microsoft Excel software. The clinical status of seropositive dogs was analyzed using the chi-square test for adherence, with a significance level of 5%, through the BioEstat 5.3 statistical software (AYRES et al., 2007). To conduct the analysis of factors associated with seroprevalence, univariable analysis was initially performed, in which each independent variable underwent an association analysis in relation to the dependent variable (positivity in serological tests). Variables with $P\text{value} \leq 0.2$ in the chi-square test (ZAR, 1999) were selected for multivariable analysis using robust Poisson regression. Collinearity between independent variables was verified by a correlation analysis; for those variables with a strong collinearity (correlation coefficient >0.9), one of the two variables was excluded from the multiple analysis according to the biological plausibility (DOHOO et al., 1996). To assess how well the model fits the Person Chi-square was used, and the significance of the model was verified with Omnibus test. The significance level adopted in the multiple analysis was 5%, and the software used was SPSS for Windows version 20.0.

Results

Out of the 409 samples analyzed, 120 were positive in the ELISA S7® test, thus giving rise to seroprevalence of 29.3%. The prevalence in the different municipalities ranged from 8.3 to 61.1%, and positive animals were detected in all eight municipalities (Table 1 and

Figure 1). Of the 120 seropositive animals only 15 (12.5%) showed clinical signs suggestive of the disease ($P < 0.001$).

The variables selected ($P \leq 0.2$) in the univariable analysis were: owner's educational level, contact with small ruminants, destination of garbage, condition of housing, daily cleaning of the animals' environment, tick infestation, adequate ectoparasite control, and deworming (Table 2).

The robust Poisson regression analysis confirmed that two factors were associated with seroprevalence (Table 3): illiterate/incomplete elementary owner's education level (prevalence ratio = 1.57; 95% CI = 1.05 - 2.34; $P = 0.027$) and tick infestation (prevalence ratio = 1.82; 95% CI = 1.27 - 2.61; $P = 0.001$). The model presented good fit (Pearson Chi-square: value = 296.01; degrees of freedom - df = 396; value/df = 0.737) and statistical significance (Omnibus test: likelihood ratio Chi-square = 27.13; df = 12; $P = 0.007$).

Discussion

This was the first survey showing occurrences of visceral leishmaniasis among dogs in the Brejo Paraibano microregion and, depending on the municipality, the prevalence of this disease could reach over 60%. This disparity highlights the importance of conducting epidemiological investigations in different regions of Brazil, in order to determine the areas that are at higher risk of presenting cases of visceral leishmaniasis among dogs and humans.

Most of the seropositive dogs were asymptomatic, which reinforce that this disease is difficult to diagnose clinically, and corroborate the epidemiological characteristics already reported for this disease, which included a high proportion of asymptomatic seropositive animals (BRASIL, 2016). Therefore, the use of a highly sensitive diagnostic technique to detect animals in the early stages of the disease is extremely important from an epidemiological point of view, as asymptomatic dogs may be acting as silent reservoirs in the urban environment.

The seroprevalence found in this study was considered to be high compared with other studies conducted in the state of Paraíba using the ELISA S7® as confirmatory test. Fernandes et al. (2016) conducted a study in urban centers of Paraíba (João Pessoa, Patos, Sousa, Campina Grande and Cajazeiras) and found prevalence of 7.8%, i.e., 3.7 times lower than what was observed in the present study. This may have been related to the fact that larger municipalities have higher socioeconomic condition, which positively influences animal basic care and is reflected in the prevalence of diseases. Brasil et al. (2018) conducted a survey with

dogs attended at veterinary clinics in the city of João Pessoa and found a prevalence of 2.8%, a value that is 10.4 lower than what was observed in the present study, and this may be related to the higher purchasing power of tutors who attend private clinics, positively influencing the basic care of animals and the occurrence of diseases.

In another study conducted in this state, encompassing the municipalities of Cajazeiras, Sousa, Patos, and Uiraúna, also using ELISA S7® as diagnostic test, a prevalence of 12.9% was observed (SILVA et al., 2018). These differences can be attributed to the regional particularities of each locality, including the fact that these places are in different biomes. In those studies, the predominant biome was the caatinga, whereas the Brejo Paraibano microregion studied here presents remnants of the Atlantic Rainforest, which may have given rise to higher occurrence of the vector. These data corroborate the findings of Barbosa et al. (2010), who stated that localities closer to forests have 3.4 to 12 times greater chances of presenting animals that are seropositive for *Leishmania* spp.

We decided to use ELISA S7® as diagnostic test because it is licensed for the diagnosis of CVL by the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Supply and is increasingly being used by researchers with purpose of detecting CVL seropositive animals (FIGUEIREDO et al., 2014; FERNANDES et al., 2016; SILVA et al., 2017; SILVA et al., 2018). Among the peculiarities of this test is the fact that it is highly specific, drastically reducing the cross-reactions that occur in tests that are based on whole antigen and require other complementary tests (FERNANDES et al., 2016; BRASIL et al., 2018). In addition, ELISA S7® allows detection of antibodies at the earliest stage of infection, increasing the sensitivity to detect asymptomatic animals.

It is also noteworthy that currently the protocol recommended by the Ministry of Health for the diagnosis of CVL is through the use of the DPP® Rapid Immunochromatographic Test (Dual Path Platform - Biomanguinhos/FIOCRUZ) as screening and the ELISA (Kit EIE - CVL - Biomanguinhos/FIOCRUZ) as confirmatory (BRASIL, 2011). However, although DPP® has good applicability for use in the field, as it is a fast and easily performed technique, it tends to present low sensitivity in detecting asymptomatic animals (GRIMALDI et al., 2012). In addition, the ELISA (EIE kit - CVL) recommended as confirmatory test still uses the whole antigen, unlike ELISA S7®, which has a highly specific recombinant protein for the diagnosis of LVC as its antigen. Albuquerque (2006) found higher specificity of ELISA S7® (89.4%) when compared to ELISA-EIE (85.6%) for the diagnosis of CVL, however, ELISA S7® had lower sensitivity (41.4%) when compared to ELISA-EIE (65.8%), which may be related to the infection phase of the dog population

sampled in this study that included only symptomatic dogs, since ELISA S7® has better sensitivity in detecting positive dogs at the onset of infection. Nóbrega (2014) reported better performance of ELISA S7® when compared to DPP®, both in sensitivity and specificity; among asymptomatic dogs DPP® presented 61% sensitivity and 86% specificity and ELISA S7® presented 74% and 93%, respectively.

The owner' educational level was associated with seroprevalence for CVL, such that dogs belonging to owners who were illiterate or incomplete elementary educational level presented prevalence that was 0.57 times greater than dogs whose owners had complete elementary education. This may have been a reflection from lack of knowledge regarding this disease and the type of care that is required for its prevention. This result corroborates what was reported by Coura-Vital et al. (2011), who identified lack of knowledge regarding the forms of transmission of VL as risk factor.

Dogs that presented tick infestation had prevalence that was 0.82 times greater than dogs without tick infestation, which may be related to failures in the primary care of these animals by the owners, predisposing the dogs to several diseases (AKTAS et al., 2015) that can cause debilitation of the immune system. On the other hand, some studies had already shown the presence of *Leishmania* spp. in ticks found on dogs that were infected with VL (COUTINHO et al., 2005; CAMPOS & COSTA, 2014). In addition, oral transmission was shown to occur among hamsters after ingestion of infected ticks (COUTINHO et al., 2005). Moreover, presence of promastigote forms of *Leishmania* spp. was observed recently in *Rhipicephalus sanguineus* (VIOL et al., 2016). Another important factor is that the dendritic cells found in lymphoid tissues of the intestinal mucosa are able to expand their cytoplasmic extensions into the intestinal lumen and capture antigens (TIZARD, 2014). This makes oral transmission possible if animals ingest ticks infected with *Leishmania* spp. In addition, the fact that ticks transmit several diseases, including potentially fatal ones, may also be a predisposing factor for transmission of VL because of debilitation of the immune system. Ineffective ectoparasite control was also observed to be a risk factor for CVL, and this serves to alert to the need for owners to use adequate protocols for tick control among their pets, since it is not yet clear whether ixodid ticks are also part of the epidemiology of VL.

Conclusions

It is concluded that the seroprevalence of visceral leishmaniasis among dogs in the Brejo Paraibano microregion is high. This is noteworthy because this region presents specific

characteristics that may influence the occurrence of the disease, including the presence of remnants of the Atlantic Rainforest and high rainfall. The factors associated with seroprevalence indicated that there is a need to develop socioeducational actions on the population, with emphasis on knowledge about the epidemiology, and ways of preventing and controlling the disease. In addition, the finding that tick infestation was associated with seroprevalence shows that there is a need for deeper investigation regarding the role of ixodid ticks in the epidemiological cycle of VL.

References

AESA. *Agência Executiva de Gestão das Águas* [online]. 2019 [cited 2019 Feb 10]. Available from: <http://www.aesa.pb.gov.br/aesa-website/meteorologiachuvas/?formdate=2019-02-10&produto=microrregiao&periodo=personalizado>.

Aktas M, Özübek S, Altay K, Ipek NDS, Balkaya I, Utuk AE, et al. Molecular detection of tick-borne rickettsial and protozoan pathogens in domestic dogs from Turkey. *Actas et al. Parasit Vectors* 2015; 8(157) 1-6. <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-015-0763-z>.

Albuquerque AR. *Aspectos epidemiológicos, clínicos e de diagnósticos em cães (Canis familiares) (LINNAEUS, 1758) naturalmente infectados por Leishmania (Leishmania) chagasi (CUNHA & CHAGAS, 1937)* [Dissertação]. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2006. Available from: <http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/handle/tede2/5115>.

Araujo MM. *Aspectos ecológicos dos helmintos gastrintestinais de caprinos do município de patos, Paraíba - Brasil* [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2002.

Ayres M, Ayres Jr. M, Ayres DL, Santos AS. *Bioestat 5.0 - Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas* [online]. 2007 [cited 2019 Feb 10]. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Alex_De_Assis_Dos_Santos/publication/263608962_BIOESTAT_-_aplicacoes_estatisticas_nas_areas_das_Ciencias_BioMedicas/links/02e7e53b598e69ebfe000000.pdf.

Barbosa DS, Rocha AL, Santana AA, Souza CSF, Dias RA, Costa-Júnior LM, et al. Soroprevalência e variáveis epidemiológicas associadas à leishmaniose visceral canina em

área endêmica no município de São Luís, Maranhão, Brasil. *Ciênc Anim Bras* 2010; 11(3) 653-659. <http://dx.doi.org/10.5216/cab.v11i3.5933>.

Boaz R, Corberán-Vallet A, Lawson A, Lima Júnior FEF, Donato LE, Alves RV, et al. Integration of animal health and public health surveillance sources to exhaustively inform the risk of zoonosis: An application to visceral leishmaniasis data in Brazil. *Spat Spatiotemporal Epidemiol* 2018; 0(0) 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.sste.2018.09.001>.

Brasil AWL, Machado DMR, Silva MARX, Barrosa NC, Silva RBS, Melo MA, et al. Prevalence and risk factors associated with *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* infections in dogs presented at veterinary clinics in João Pessoa, Paraíba state, northeastern Brazil. *Semina: Ciênc Agrár* 2018; 39(5) 2293-2300. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n5p2293>.

Brasil. *Esclarecimentos sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC)*. Nota Técnica Conjunta nº 1 [online] 2011. [cited 2019 Mar 26]. Available from: http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2012-05/nota-tecnica-no.1-2011_cglab_cgdt1_lvc.pdf.

Brasil. Guia de Vigilância em Saúde [online]. 2016 [cited 2019 Mar 26]. Available from: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/novembro/18/Guia-LV2016.pdf>.

Campos JHF, Costa FAL. Participation of ticks in the infectious cycle of canine visceral leishmaniasis, in Teresina, Piauí, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2014; 56(4) 297– 300. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652014000400005>.

Coura-Vital W, Marques MJ, Caetano VM, Roatt BM, Aguiar-Soares RD, Reis LE, et al. Prevalence and factors associated with *Leishmania infantum* infection of dogs from an urban area of Brazil as identified by molecular methods. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5(8) 1-10. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001291>.

Coutinho MTZ, Bueno LL, Sterzik A, Fujiwara RT, Botelho JR, Maria M, et al. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Vet Parasitol* 2005; 128(1-2) 149-55. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.11.011>.

Dohoo IR, Martin W, Stryhn H. *Veterinary Epidemiologic Research*. Charlottetown: Atlantic Veterinary College; 2003. Fernandes ARF, Pimenta CLRM, Vidal IF, Oliveira GC, Sartori RS, Araújo RB, et al. Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and

Trypanosoma cruzi in dogs in the state of Paraíba, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2016; 25(1) 90-98. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612016010>.

Figueiredo MJFM, Souza NF, Figueiredo HF, Meneses AMC, Silva Filho E, Nascimento GG. Fatores de risco e classificação clínica associados à soropositividade para Leishmaniose visceral canina. *Cienc Anim Bras* 2014; 15(1) 102-106. <https://doi.org/10.5216/cab.v15i1.25097>

Grimaldi G, Teva A, Ferreira AL, Santos CB, Souza-Pinto I, Azevedo CT, et al. Avaliação de um novo imunoenensaio cromatográfico baseado na tecnologia Dual-Path Platform (DPP® CVL teste rápido) para o sorodiagnóstico da leishmaniose visceral canina. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2012; 106(1) 54-59. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trstmh.2011.10.001>.

IBGE. *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística* [online]. 2010 [cited 2019 Jan 30]. Available from: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/panorama>.

Kuhls K, Alam MZ, Cupolillo E, Ferreira GEM, Mauricio IL, Oddone R, et al. Comparative microsatellite typing of new world *Leishmania infantum* reveals low heterogeneity among populations and its recent old world origin. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5(6) e1155. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001155>.

Nóbrega GD. *Comparação entre métodos recombinantes e pcr em tempo real no diagnóstico da leishmaniose visceral canina* [Dissertação]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2014. Available from: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/12182>.

Porto KC, Cabral JJP, Tabarelli M. *Brejos de altitude em Pernambuco e Paraíba: história natural, ecologia e conservação* [online]. 2004 [cited 2019 Mar 26]. Available from: <http://www.terrabrasil.org.br/ecotecadigital/pdf/brejos-de-altitude-empernambuco-e-paraiba-.pdf>.

Silva JD, Melo DHM, Costa JAG, Costa DF, Silva RBS, Melo MA, et al. Leishmaniose visceral em cães de assentamentos rurais. *Pesq Vet Bras* 2017; 37(11) 1292-8. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2017001100016>.

Silva RBS, Mendes RS, Santana VL, Souza HC, Ramos CPS, Souza AP, et al. Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Visceral Canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. *Pesq Vet Bras* 2016; 36(7) 625-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2016000700011>.

Silva RBS, Porto ML, Barbosa WO, Souza HC, Marques NFSP, Azevedo SS, et al. Seroprevalence and risk factors associated with canine visceral leishmaniasis in the State of Paraíba, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2018; 51(5) 683-8. <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0429-2017>.

SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação. *Dados epidemiológicos Sinan: Doenças e Agravos de Notificação - De 2007 em diante* [online]. 2017 [cited 2019 Mar 06]. Available from: <http://portalsinan.saude.gov.br/dados-epidemiologicossinan>.

Thrusfield M. *Veterinary Epidemiology*. Oxford: Wiley Blackwell; 2007.

Tizard I. *Imunologia Veterinária*. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2014.

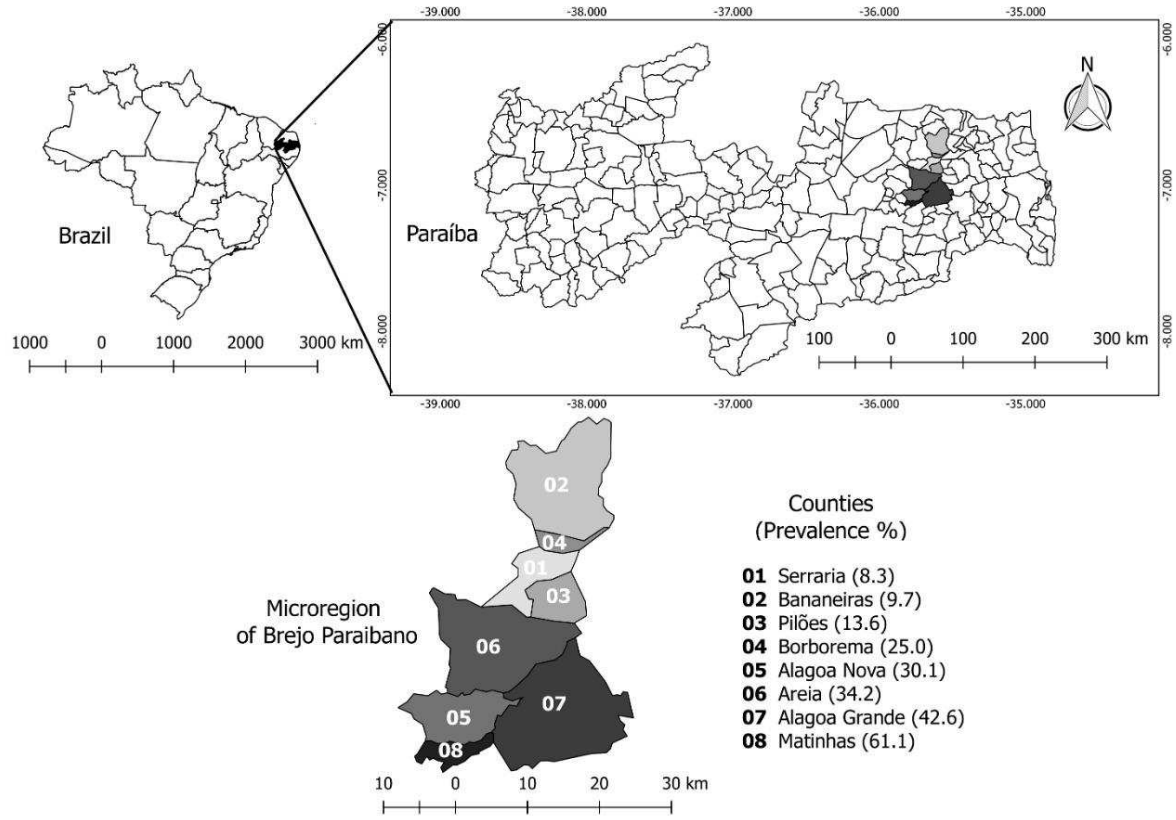
Viol MA, Guerrero FD, Oliveira BCM, Aquino MCC, Loiola SH, Melo GD, et al. Identification of *Leishmania* spp. promastigotes in the intestines, ovaries, and salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* actively infesting dogs. *Parasitol Res* 2016 15(9) 3479-84. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-016-5111-5>.

WHO - World Health Organization. *Leishmaniasis: background information* [online]. 2019 [cited 2019 Mar 26]. Available from: <https://www.who.int/leishmaniasis/disease/en/>.

Zar JH. *Biostatistical Analysis*. 4. ed. New Jersey: Prentice-Hall; 1999.

Figure captions

Figure 1. Geographic representation of the municipalities of Brejo Paraibano microregion, Brazil, and the seroprevalences for visceral leishmaniasis in dogs between May and October 2017.



Tables

Table 1. Numbers of inhabitants, minimum number of dogs to be sampled, sampled dogs and positive animals in each municipality of the Brejo Paraibano microregion.

| Municipality | Inhabitants* | Minimum number of dogs to be sampled | Sampled dogs | Positive dogs (%) |
|---------------|----------------|---|--------------|-------------------|
| Alagoa Grande | 28,479 | 94 | 101 | 43 (42.6) |
| Areia | 23,829 | 78 | 79 | 27 (34.2) |
| Bananeiras | 21,851 | 72 | 72 | 22 (30.1) |
| Alagoa Nova | 19,681 | 65 | 73 | 7 (9.7) |
| Serraria | 6,238 | 21 | 24 | 2 (8.3) |
| Pilões | 6,978 | 23 | 22 | 3 (13.6) |
| Borborema | 5,111 | 17 | 20 | 5 (25.0) |
| Matinhas | 4,321 | 14 | 18 | 11 (61.1) |
| Total | 116,488 | 384 | 409 | 120 (29.3) |

*Source: IBGE (2010)

Table 2. Univariable analysis on the factors associated with seroprevalence for visceral leishmaniasis among dogs in the Brejo Paraibano microregion.

| Variable | Categories | Total No. of dogs | Positive dogs (%) | P-value |
|------------------------------|--|-------------------|-------------------|---------|
| Sex | Female | 193 | 57 (29.5) | 0.935 |
| | Male | 216 | 63 (29.2) | |
| Breed | Without defined breed | 338 | 100 (29.6) | 0.812 |
| | With defined breed | 71 | 20 (28.2) | |
| Age | Up to 1 year | 88 | 21 (23.9) | 0.436 |
| | 1 – 5 years | 197 | 60 (30.5) | |
| | Over 5 years | 124 | 39 (31.5) | |
| Owner' educational level | Illiterate/Incomplete elementary education | 288 | 96 (33.3) | 0.006* |
| | Complete elementary education | 121 | 24 (19.8) | |
| Family income | Up to 1 minimum wage | 268 | 85 (31.7) | 0,076* |
| | 1-2 minimum wages | 114 | 32 (28.1) | |
| | More than 2 minimum wages | 27 | 3 (11.1) | |
| Contact with cats | No | 257 | 70 (27.2) | 0.225 |
| | Yes | 152 | 50 (32.9) | |
| Contact with small ruminants | No | 381 | 112 (29.4) | 0.926 |
| | Yes | 28 | 8 (28.6) | |
| Contact with cattle | No | 398 | 119 (29.9) | 0.135* |
| | Yes | 11 | 1 (9.1) | |
| Contact with horses | No | 393 | 119 (30.3) | 0.039* |
| | Yes | 16 | 1 (6.2) | |
| Presence of mosquitos | No | 78 | 18 (23.1) | 0.177* |
| | Yes | 331 | 102 (30.8) | |
| Disposal of garbage | Public collection | 390 | 115 (29.5) | 0.767 |
| | Vacant lots or on the streets | 19 | 5 (26.3) | |

| | | | | |
|--|-----------------------------------|-----|------------|----------|
| Type of water for human consumption | Treated water | 215 | 63 (29.3) | 0.986 |
| | Untreated water | 194 | 57 (29.4) | |
| Does a veterinarian evaluate your animals? | Yes | 41 | 13 (31.7) | 0.726 |
| | No | 368 | 107 (29.1) | |
| Condition of housing | At home without access to streets | 65 | 10 (15.4) | 0.017* |
| | At home with access to streets | 264 | 81 (30.7) | |
| | Free access to streets | 80 | 29 (36.2) | |
| Do you clean the animals' environment daily? | Yes | 298 | 78 (26.2) | 0.021* |
| | No | 111 | 42 (37.8) | |
| Dog food | Commercial | 26 | 7 (26.9) | 0.780 |
| | Commercial + homemade | 383 | 113 (29.5) | |
| Type of water for dog consumption | Treated | 199 | 49 (24.6) | 0.041* |
| | Untreated | 210 | 71 (33.8) | |
| Do you wash your animals? | Yes | 358 | 104 (29.1) | 0.733 |
| | No | 51 | 16 (31.4) | |
| Tick infestation | No | 226 | 49 (21.7) | < 0.001* |
| | Yes | 183 | 71 (38.8) | |
| Adequate ectoparasite control | Yes | 46 | 15 (32.6) | 0.605 |
| | No | 363 | 105 (28.9) | |
| Deworming | Yes | 298 | 87 (29.2) | 0.916 |
| | No | 111 | 33 (29.7) | |
| Animal with access to vacant lots | No | 175 | 39 (22.3) | 0.007* |
| | Yes | 234 | 81 (34.6) | |
| Contact with wildlife | No | 138 | 29 (21.0) | 0.008* |
| | Yes | 271 | 91 (33.6) | |

*Variables selected for robust Poisson regression.

Table 3. Factors associated with seroprevalence for visceral leishmaniasis among dogs in the Brejo Paraibano microregion, determined using robust Poisson regression analysis.

| Variable category | Coefficient estimates | Standard error | Wald Chi-square | Prevalence ratio | 95% CI | P-value |
|--|------------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|---------------|----------------|
| Illiterate/incomplete elementary owner's education level | 0.451 | 0.204 | 4.88 | 1.57 | 1.05; 2.34 | 0.027 |
| Tick infestation | 0.6 | 0.183 | 10.8 | 1.82 | 1.27; 2.61 | 0.001 |

Goodness of fit: Pearson Chi-square value = 296.01; degrees of freedom = 396; value/df = 0.737

CAPÍTULO II

Cross-sectional survey for canine leptospirosis in an Atlantic Rainforest area of the semiarid of Paraíba state, Northeastern Brazil

(Pesquisa Veterinária Brasileira, Qualis/CAPES: A2, Impact Factor: 0,26)

Cross-sectional survey for canine leptospirosis in an Atlantic Rainforest area of the semiarid of Paraíba state, Northeastern Brazil¹

Maria G.S. Bernardino², Diego F. Costa², Denise B. Nogueira², Maria L.C.R. Silva², Edijanio G. Silva², Arthur N. Carreiro², Clebert J. Alves² and Sérgio S. Azevedo^{2*}

ABSTRACT.- Bernardino M.G.S., Costa D.F., Nogueira D.B., Silva M.L.C.R., Silva E.G.², Carreiro A.N. & Azevedo S.S. 2020. **Cross-sectional survey for canine leptospirosis in an Atlantic Rainforest area of the semiarid of Paraíba state, Northeastern Brazil.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Av. Universitária s/n, Cx. Postal 61, Santa Cecília, Patos, PB 58700-970, Brazil. E-mail: sergio@vps.fmvz.usp.br.

Leptospirosis is a worldwide zoonosis caused by the bacteria *Leptospira* spp. that affects humans, domestic and wild animals. The present work aimed to conduct a cross-sectional survey for leptospirosis in the canine population of the Brejo Paraibano microregion, semiarid of Northeastern Brazil. From May to October 2017, blood samples from 414 dogs were collected in the counties of Alagoa Grande (n = 100), Areia (n = 79), Bananeiras (n = 72), Alagoa Nova (n = 73), Serraria (n = 25), Pilões (n = 25), Borborema (n = 20) and Matinhas (n = 20). The tutors of the sampled dogs answered an epidemiological questionnaire, obtaining information about the animals, owner, residence and breeding of the dogs. Subsequently, the serum samples were subjected to the microscopic agglutination test (MAT), using a collection of 23 serovar pathogenic antigens and using the 1:50 dilution as the cutoff point. Of the 414 dogs analyzed 52 were seroreactive, resulting in an apparent prevalence of 12.6% and a real prevalence of 12.2%. Seroreactive dogs were found in the eight counties. Dogs were reactive for the serogroups Icterohaemorrhagiae (76.9%), Autumnalis (13.55%), Pomona (3.8%), Grippotyphosa (3.8%) and Serjoe (1.9%) Antibody titers ranged from 50 to 800. The statistical analysis (robust Poisson regression) detected six factors associated with seropositivity, including the rainy season (prevalence ratio; PR = 1.94; P = 0.013), male dogs (PR = 2.10; P = 0.005), animals with age greater than five years (PR = 4.21; P = 0.012), consumption of untreated water (PR = 1.87; P = 0.043), free access of dogs to street (PR = 2.15; P = 0.011) and contact with wildlife (PR = 3.54; P = 0.050). The serogroup Icterohaemorrhagiae has a high zoonotic potential and was the most frequent in seropositive animals. The high real prevalence of *Leptospira* spp. in a transmission region of the semiarid region of Paraíba and the occurrence of seroreactive animals in all the counties suggest wide distribution of the infection and reinforce the need for preventive measures to avoid infection in pets and, consequently, to humans. The analysis of factors associated with the prevalence suggest greater management cares with the dogs.

INDEX TERMS: Leptospirosis, epidemiology, zoonosis, pets, One Health.

Resumo.- [Estudo transversal para leptospirose canina em área de Mata Atlântica do semiárido da Paraíba, Nordeste do Brasil.] A leptospirose é uma zoonose mundial causada pela bactéria *Leptospira* spp. que afeta seres humanos, animais domésticos e selvagens. O presente trabalho teve como objetivo realizar um estudo transversal de leptospirose na população canina da microrregião Brejo Paraibano, semiárido do Nordeste do Brasil. No período de maio a outubro de 2017, amostras de sangue de 414 cães foram coletadas nas cidades de Alagoa Grande (n=100), Areia (n=79), Bananeiras (n=72), Alagoa Nova (n=73), Serraria (n=25), Pilões (n=25), Borborema (n=20) e Matinhas (n=20). Os tutores dos cães amostrados responderam a um questionário epidemiológico, sendo obtidas informações sobre os animais, proprietário, residência e criação dos cães. Posteriormente as amostras de soro foram submetidas à prova de sorotipagem microscópica (SAM), utilizando-se uma coleção de 23 sorovares antígenos patogênicos e adotando como ponto de corte a diluição 1:50. Dos 414 cães analisados 52 foram sororeativos, resultando em uma prevalência aparente de 12,6% e uma prevalência real de 12,2%. Cães sororeativos foram encontrados nos oito municípios. Os cães foram reativos para o sorogrupo Icterohaemorrhagiae (76,9%), Autumnalis (13,55%), Pomona (3,8%), Grippotyphosa (3,8%) and Serjoe (1,9%) Os títulos de anticorpos variaram de 50 a 800. A análise estatística (regressão de Poisson robusta) detectou seis fatores associados à soropositividade, incluindo o período chuvoso (razão de prevalência (RP) = 1,94; P = 0,013), cães

¹Received on...

Accepted for publication on....

²Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Tecnologia de Saúde Tecnologia Rural (CSTR). Avenida Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB, Brasil. CEP: 58708-110, Brasil. *Corresponding author: sergio@vps.fmvz.usp.br.

machos (RP = 2,10; $P = 0,005$), animais com idade maior que cinco anos (RP = 4,21; $P = 0,012$), consumo de água não tratada (RP = 1,87; $P = 0,043$), cães com livre acesso à rua (RP = 2,15; $P = 0,011$) e contato com animais silvestres (RP = 3,54; $P = 0,050$). Os resultados desse estudo indicaram que há a exposição por *Leptospira* spp. em cães da microrregião do Brejo paraibano. O sorogrupo Icterohaemorrhagiae possui alto potencial zoonótico e foi o mais frequente nos animais soropositivos. A alta prevalência real de *Leptospira* spp. em uma região de transmissão da região semiárida da Paraíba e a ocorrência de animais sororreativos em todos os municípios sugerem uma ampla distribuição da infecção e reforçam a necessidade de medidas preventivas para evitar a infecção em animais de estimação e, conseqüentemente, em seres humanos. A análise dos fatores associados à prevalência sugere maior cuidado com os cães.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Leptospirose, epidemiologia, zoonose, animais de estimação, Saúde Única.

INTRODUCTION

Leptospirosis is a zoonotic disease with worldwide distribution and increasing prevalence (Lane & Dore 2016) caused by pathogenic bacteria belonging to the genus *Leptospira*, which can affect humans, domestic and wild animals (Ellis 2015). In humans, Brazil has an endemic situation, with an annual average of three thousand cases confirmed (SINAN 2019), and in this context, humans act as accidental hosts and when infected they can develop the severe form of the disease (Haake & Levett 2015).

In the urban environment, the main reservoirs of the disease are synanthropic animals (Scialfa et al. 2010; Benacer et al. 2013). In addition, several domestic and wild species can act as important reservoirs in the epidemiological cycle (Vieira et al. 2016, Miotto et al. 2018a, Zarantonelli et al. 2018). The indirect way is the main route of transmission of the agent, through contact with water or soil contaminated with the urine of infected animals (Haake & Levett 2015).

From the One Health point of view, human health is linked to animal and environmental health, as well as to the adoption of effective public policies for the prevention and control of diseases at the local, regional, national and global levels (OIE, 2019). Taking this as an assumption, surveys with dogs can provide important information for various problems that affect human health, as these animals have close contact with humans and act as sentinels for various diseases. In addition, dogs can host and amplify various infectious agents of great importance in public health, including leptospires, and when infected they can develop the subclinical condition and act as carriers (Oliveira et al. 2012).

The prevalence of the disease is influenced by several factors, including geographic distribution and socioeconomic factors (Baquero & Machado 2018), and in this context the conduction of epidemiological surveys in different locations is important. Some surveys with dogs have been carried out in the state of Paraíba (Alves et al. 2004, Batista et al. 2004, Azevedo et al. 2011, Silva et al. 2017b, Fernandes et al. 2018a, Brasil et al. 2018, Fernandes et al. 2018b), however, there are still no surveys that indicate the epidemiological situation of canine leptospirosis in the Brejo paraibano microregion, which can be considered an important transmission area, as this region presents specific characteristics that may influence the occurrence of this disease, including the presence of remnants of the Atlantic Rainforest (Porto et al. 2004) and high rainfall (AESA 2019). According to data from the Ministry of Health, 325 cases of human leptospirosis between 2000 and 2018 were confirmed in the state of Paraíba (SINAN 2019), which reinforces the need to carry out epidemiological surveys in the region. Therefore, this work aimed to conduct a cross-sectional study for leptospirosis in the canine population of the Brejo Paraibano microregion, semiarid of Northeastern Brazil.

MATERIAL AND METHODS

The present study was approved by the Research Ethics Committee of the Rural Healthcare and Technology Center of the Federal University of Campina Grande, under protocol no. 025/2017.

Study area and sampling. This study was conducted on dogs living in the urban area of the Brejo Paraibano microregion, in the state of Paraíba, Northeastern Brazil, which consists of eight municipalities, namely: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões and Serraria. Its territorial area is 840,452 km², with a population of 116,488 inhabitants (IBGE 2010).

In order to define the minimum number of animals to be sampled the formula for simple random sampling was used (Thrusfield 2007), considering the following parameters: expected prevalence of 50% (sample maximization), confidence level of 95% ($z = 1.96$) and statistical error of 5%. With these parameters a minimum sample size of 384 dogs was required, but we provided a sample of 414 dogs older than three months of age, of both sexes (193 females and 221 males) and different breeds, without

leptospirosis vaccination history in the last 12 months. The minimum number of dogs to be sampled in each municipality of the microregion was defined proportionally according to the number of inhabitants (Table 1).

Sample collection. The fieldwork was conducted by a trained team through home visits to the residents of the microregion. The dogs' owners were given explanations about the objectives of the study and, after agreeing to participate, signed a free and informed consent statement. The collection of the samples was carried out between May and October 2017, comprising two periods of different pluviometric indexes: rainy (May to July) and dry (August to October). From each animal a blood sample was collected, and after removal of the coagulum the serum was transferred to 1.5-mL microtubes and stored at -20 °C until the serological tests.

A questionnaire was applied to the owners to obtain data to be used in the analysis of factors associated with seroprevalence. The variables and respective categories considered in the questionnaire were:

(a) Information about the season and dogs: season (dry, rainy), sex (female, male), age (up to 1 year, 1-5 years, over 5 years), and breed (without defined breed, with defined breed);

(b) Information about owner and residence: educational level (illiterate/incomplete primary education, completed elementary school), disposal of garbage (public collection, vacant lots/on the streets), presence of rodents (no, yes), type of water for consumption (treated, untreated), and yard (no/cement, soil/soil-cement);

(c) Characteristics of animal husbandry: condition of housing (domiciled/semi-domiciled, free access to streets), dog food (commercial, commercial + homemade), ectoparasite control (yes, no), deworming (yes, no), veterinary assistance (yes, no), animal with access to vacant lots (yes, no), contact with small ruminants (yes, no), contact with cattle (yes, no), contact with horses (yes, no), and contact with wildlife (yes, no).

Serological test. For anti-*Leptospira* sp. antibody detection the microscopic agglutination test (MAT) (OIE 2018) was used. The antigens used were strains of *Leptospira interrogans* serovars Copenhageni, Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Hardjoprajitno, Pomona, Pomona Fromm, Pyrogenes, Icterohaemorrhagiae, Hebdomadis and Wolffi; *L. borgpetersenii* serovars Autumnalis, Javanica, Tarassovi, Mini and Ballum; *L. santarosai* serovars Guaricura, Canalzone and Shermani; *L. kirschneri* serovar Cynopteri; *L. noguchii* serovars Panama and Louisiana; *L. weilli* serovar Celledoni. Sera were screened at the 1:50 dilution, and those with 50% or more of agglutination were titrated by examining a series of geometric dilutions of ratio two. The serum titer was defined as the reciprocal of the highest dilution that showed positive result, and the cutoff point adopted was titer ≥ 50 . The reagent serogroup in each animal was defined by the serovar that had the highest titer.

Statistical analysis. Apparent and real prevalences were calculated according to Noordhuizen et al. (1997). Apparent prevalence was obtained by the ratio between the number of seroreactive animals and the total number of animals. Real prevalence value was estimated by the adjustment of apparent prevalence for the sensitivity (82%) and specificity (97%) of the MAT (Cumberland et al. 1999):

$$RP = \frac{(AP + SPE - 1)}{(SEN + SPE - 1)}$$

Where,

RT = real prevalence
 AP = apparent prevalence
 SPE = specificity
 SEN = sensitivity

The information obtained with the epidemiological questionnaires and serological tests were stored in a database created with the Microsoft Excel software. To conduct the analysis of factors associated with seropositivity, univariable analysis was initially performed, in which each independent variable underwent an association analysis in relation to the dependent variable (seropositivity in serological tests). Variables with P -value ≤ 0.2 in the Chi-square test (Zar 1999) were selected for multivariable analysis using robust Poisson regression. Collinearity between independent variables was verified by a correlation analysis; for those variables with a strong collinearity (correlation coefficient >0.9), one of the two variables was excluded from the multiple analysis according to the biological plausibility (Dohoo et al. 1996). To assess how well the model fits the Person Chi-square was used, and the

significance of the model was verified with Omnibus test. The significance level adopted in the multiple analysis was 5%, and the software used was SPSS for Windows version 20.0.

RESULTS

Of the 414 dogs analyzed 52 were seroreactive, resulting in an apparent prevalence of 12.6% and a real prevalence of 12.2%. Seroreactive dogs were found in the eight counties (Table 1 and Figure 1), with the highest prevalence obtained in the county of Serraria (28%), followed by Areia (20.2%), Pilões (20%), Matinhas (15%), Borborema (10%), Alagoa Nova (9.6%), Alagoa Grande (7%) and Bananeiras (6.9%).

Dogs were reactive for the serogroups Icterohaemorrhagiae (76.9%), Autumnalis (13.55%), Pomona (3.8%), Grippotyphosa (3.8%) and Serjoe (1.9%) (Table 2). Antibody titers ranged from 50 to 800 according to the following distribution: five (9.6%) dogs showed titer 50, 11 (21.2%) titer 100, 18 (34.6%) titer 200, nine (17.3%) titer 400 and nine (17.3%) titer 800.

Variables selected in the univariable analysis ($P < 0.20$) were (Table 3) season ($P = 0.003$), sex ($P = 0.119$), age ($P < 0.001$), breed ($P = 0.018$), owner's educational level ($P = 0.005$), disposal of garbage ($P < 0.001$), presence of rodents ($P = 0.165$), type of water for consumption ($P < 0.001$), characteristics of the yard ($P = 0.011$), condition of housing ($P < 0.001$), dog food ($P = 0.008$), ectoparasite control ($P = 0.161$), veterinary assistance ($P = 0.118$), access to vacant lots ($P < 0.001$), contact with cattle ($P = 0.001$), contact with horses ($P = 0.021$) and contact with wildlife ($P < 0.001$).

In the robust Poisson regression analysis, six factors associated with seroprevalence were confirmed (Table 4), including the rainy season (prevalence ratio - PR = 1.94; $P = 0.013$), male dogs (PR = 2.10; $P = 0.005$), animals with age greater than five years (PR = 4.21; $P = 0.012$), consumption of untreated water (PR = 1.87; $P = 0.043$), free access of dogs to street (PR = 2.15; $P = 0.011$) and contact with wildlife (PR = 3.54; $P = 0.050$). The model presented good fit (Pearson Chi-square: value = 312.78; degrees of freedom - df = 397; value/df = 0.788) and statistical significance (Omnibus test: likelihood ratio Chi-square = 73.27; df = 16; $P < 0.001$).

DISCUSSION

The real prevalence of dogs seroreactive for *Leptospira* sp. obtained in this survey can be considered high given the importance of infection from the One Health point of view, because in addition to the impacts on animal and public health, the infection has a strong environmental component in its epidemiology. It is noteworthy that all counties in the region had seroreactive animals, with prevalence rates ranging from 7% to 28%. These results alert to the intensification of preventive measures that minimize the risk of exposure of animals and humans to the agent, especially in the case of a region that has favorable environmental conditions for the spread of leptospires. It is worthy mentioning that titration equal to or greater than 800 indicates an acute infection in dogs and on this clinical condition they can eliminate live leptospires in the urine (Miotto et al. 2018b), so that this finding shows the high risk of infection for humans due to the close relationship with their pets.

The most prevalent serogroup was Icterohaemorrhagiae, which is implicated as a cause of acute and severe disease in dogs (Freire et al. 2008), as well as one of the most frequent and pathogenic for humans (Romero et al. 2003). This data is relevant because infected dogs eliminate live leptospires through urine (Freitas et al. 2004, Miotto et al. 2018b), becoming important sources of infection for humans due to their close relationship. The predominance of the serogroup Icterohaemorrhagiae is not a common finding when compared to studies carried out in recent years in other regions of Brazil. In the Southern region, the most common serogroups were Canicola and Autumnalis (Morikawa et al. 2015, Oliveira et al. 2016, Hafemann et al. 2018, Pinto-Ferreira et al. 2019), in Minas Gerais the serogroups Autumnalis, Tarassovi, Canicola and Grippotyphosa (Castro et al. 2015), in Pará, Canicola, Semaranga and Icterohaemorrhagiae (Paz et al. 2015), and in Piauí, the serogroups Canicola, Autumnalis and Australis were the most frequent (Silva et al. 2017a).

On the other hand, the higher frequency of the serogroup Icterohaemorrhagiae was also recently reported in dogs from other regions of the state of Paraíba, with a frequency of 47% in dogs residing in large urban centers (Fernandes et al. 2018a) and 43% in dogs from the Sertão of Paraíba (Fernandes et al. 2018b). These data show that the serogroup Icterohaemorrhagiae is being maintained in dogs from the state of Paraíba and reinforces the importance of rodent control in the urban environment, as it is known that the main reservoir of this serogroup in urban environments is the rat (*Rattus norvegicus*), which is resistant to clinical disease and hosts bacteria in the kidneys, eliminating them through urine intermittently for long periods (Brazil 2017). In addition, the fact that the Brejo paraibano has a large

forest area indicates the possible participation of wild hosts that maintain serogroup *Icterohaemorrhagiae* in the epidemiological cycle of the region.

The *Autumnalis* serogroup was the second most prevalent, and although it is considered uncommon in dogs, in recent years there has been an increase in seropositivity reports (Lemos et al. 2010, Castro et al. 2011, Castro et al. 2015). It is worth mentioning that among domestic species, this serogroup is more frequently reported as predominant in sheep (Alves et al. 2004, Higino et al. 2010, Alves et al. 2012, Barbante et al. 2014) and goat (Araújo Neto et al. 2010, Higino et al. 2012, Higino et al. 2013, Pimenta et al. 2019). Therefore, it is likely that sheep and goat may be acting as reservoirs for this serogroup, thus contaminating the environment and other species, including dogs. Seropositivity for serogroup *Autumnalis* is also of concern, since vaccines commercially available for dogs do not include bacteria from that serogroup, so that animals can be susceptible to infection even when vaccinated.

Serogroups *Pomona*, *Grippytyphosa* and *Serjoe* were also detected in the presente survey. *Pomona* is commonly found in pigs, being adapted to this species (Miraglia et al. 2015), wild animals tend to be reservoirs of the *Grippytyphosa* serogroup (Allen et al. 2014, Pedersen et al. 2018) and cattle are often associated with the *Serjoe* (Pimenta et al. 2019). Therefore, it is possible that other animal species act as important reservoirs in the epidemiological cycle of leptospirosis in the region.

Cross-sectional studies are one of the most frequently designed observational studies in animal leptospirosis as well as in veterinary epidemiology, likely because they are rapid, inexpensive and of moderate difficulty, and the odds ratio (OR) is the most usual association measure estimated. However, when the binary outcome is common, usually with a prevalence greater than 10%, the prevalence ratio (PR) can be overestimated by the OR when the PR is greater than 1 or underestimated when the PR is less than 1 (Martinez et al. 2017). In this survey a robust Poisson regression was used to estimate PR and determine the factors associated with seroprevalence.

Dogs that consumed untreated water were 0.87 times more likely to be seropositive, i.e., there was an 87% increase in prevalence. This data warns of possible contamination of the water used by the population, mainly from wells. It should also be noted that pathogenic leptospires have already been found in well water (Astuti et al. 2019) and can survive for long periods in aqueous or semi-solid environments (Trueba et al. 2004).

Dogs whose blood samples were taken in the rainy season were 0.94 more likely to be seroreactive, with a 94% increase in prevalence. According to data from the Executive Water Management Agency of the State of Paraíba - AESA (2019), the rainfall rate in the rainy season was 2.7 times higher than the dry season. Taking into account that still water and sewage may contain pathogenic leptospires in urban areas (Casanovas-Massana et al. 2018), this increase in the number of seropositive animals may be related to the spread of the agent due to rain. Associated with this, the increase in soil moisture is given as an important risk factor for the occurrence of the disease (Baquero & Machado 2018), as it favors the maintenance of the bacteria in the environment.

Male dogs were 1.10 times more likely to be seropositive, i.e., there was a 110% increase in prevalence. This may be related to the male dog reproductive habits, including licking and sniffing the female's genitals, increasing the chances of contact with contaminated urine. In addition, pathogenic leptospires were detected in urine from naturally infected dogs in the Brazil with the serovar *Icterohaemorrhagiae* (Miotto et al. 2018b).

Dogs with free access to the street were 1.15 times more likely to be seropositive (115% increase in prevalence). This may be related to increased exposure to the agent when compared to domiciled dogs. Among the possible ways of infection, these dogs may have contact with infected animals, mainly with stray dogs that tend to be reservoirs of pathogenic leptospires (Miotto et al. 2018a), or have contact with water contaminated with urine of synanthropic animals, main reservoirs in urban areas (Brazil 2017).

Dogs whose owners reported contact with wildlife were 2.54 more likely to be seropositive, representing a 254% increase in prevalence. Therefore, it should be noted that the studied area has several fragments of Atlantic Forest close to urban areas, being composed of a great biodiversity of fauna and flora (Porto et al. 2004). It suggests that the potential of its fauna as a carrier of infectious agents has yet to be elucidated, since wildlife can act as remarkable reservoirs of pathogenic leptospires (Vieira et al. 2016, Vieira et al. 2019).

Dogs older than five years were 3.21 times more likely to be seropositive (321% increase in prevalence). This finding was also found in other surveys with dogs (Mascolli et al. 2016, Fernandes et al. 2018a) and may be related to the longer exposure time to the agent when compared to younger animals.

CONCLUSIONS

The high real prevalence of *Leptospira* sp. in a transmission region of the semiarid of Paraíba and the occurrence of seroreactive animals in all the municipalities suggest wide distribution of the infection and reinforce the need for preventive measures to avoid infection in pets and, consequently, to humans. The analysis of factors associated with the prevalence suggest greater management cares with the dogs.

Conflict of interest statement. - The authors have no competing interests.

REFERENCES

- AESA - Agência Executiva de Gestão das Águas. 2019. Meteorologia – Chuvas [online] Available from: <<http://www.aesa.pb.gov.br/aesa-website/meteorologia-chuvas/>>
- Allen S.E., Ojkic D. & Jardine C.M. 2014. Prevalence of Antibodies to *Leptospira* in Wild Mammals Trapped on Livestock Farms in Ontario, Canada. *J. Wildl. Dis.*, 50(3):666–670. <<http://dx.doi.org/10.7589/2013-11-292>>
- Alves C.J., Alcino J.F., Farias A.E.M., Higinio S.S.S., Santos F.A., Azevedo S.S., Costa D.F. & Santos C.S.A.B. 2012. Epidemiological characterization and risk factors associated with leptospirosis in the Brazilian semiarid. *Pesq. Vet. Bras.* 32(6):523-528. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2012000600009>>
- Alves C.J., Clementino I.J., Oliveira A.G.F., Freitas T.D., Vasconcellos S.A., Morais Z.M. 2004. Avaliação dos níveis de aglutininas antileptospira em cães de caça na Paraíba, Brasil. *R. bras. Ci. Vet.* 11(1/2):68-73. <<http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2014.347>>
- Araújo Neto J.O., Alves C.J., Azevedo S.S., Silva M.L.C.R. & Batista, C.S.A. 2010. Soroprevalência da leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, e pesquisa de fatores de risco. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 47(2):150-155.
- Astuti N.T., Sakundarno M., Setyaningsih Y., Martini M. & Saraswati L.D. 2019. The Presence of Pathogenic *Leptospira* sp. in Water Bodies in Klaten District. *Indian J Public Health Res Dev.* 10(1):439-43. <<http://dx.doi.org/10.5958/0976-5506.2019.00087.1>>
- Azevedo S., Fernandes A., Queiroga I., Alves C., Morais Z., Santos C. & Vasconcellos S. 2011. Occurrence and risk factors associated with leptospirosis in dogs attended in a veterinary hospital in the semiarid of the Paraíba State, Northeast region of Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 48(2): 161-6. <<https://doi.org/10.11606/S1413-95962011000200009>>
- Baquero O.S. & Machado G. 2018. Spatiotemporal dynamics and risk factors for human Leptospirosis in Brazil. *Sci. Rep.* 8(15170):1-14. <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-33381-3>>
- Barbante P., Shimabukuro F.H., Langoni H., Richini-Pereira V.B. & Lucheis S.B. 2014. *Leptospira* spp. infection in sheep herds in southeast Brazil. *J. venom. anim. toxins incl. trop. Dis.* 20:9-15. <<http://dx.doi.org/10.1186/1678-9199-20-20>>
- Batista C.S.A., Azevedo S.S., Alves C.J., Vasconcellos S.A., Morais Z.M., Clementino I.J., Lima F.L. & Araújo Neto J.O. 2004. Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 41(2): 131-6. <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-95962004000200009>>
- Benacer D., Zain S.N.M., Amran F., Galloway R.L. & Thong K.L. 2013. Isolation and Molecular Characterization of *Leptospira interrogans* and *Leptospira borgpetersenii* Isolates from the Urban Rat Populations of Kuala Lumpur, Malaysia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 88(4):704–9. <<http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.12-0662>> <PMid: 23358635>
- Brasil A.W.L., Costa D.F., Pimenta C.L.R.M., Parentoni R.N., Alves C.J., Santos C.S.A.B. & Azevedo S.S. 2018. Prevalence and risk factors to *Leptospira* sp. infection in dogs attended at veterinary clinics in João Pessoa, Paraíba State, Northeastern Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 55(3):1-9. <<https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2018.144154>>

- Brasil. 2017. Leptospirose - Guia de Vigilância em Saúde [recurso eletrônico]. 2ª ed. Ministério da Saúde, Brasília, p.569-88. Available from: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/outubro/06/Volume-Unico-2017.pdf>>
- Casanovas-Massana A., Costa F., Riediger I.N., Cunha M., Oliveira D., Mota D.C., Sousa E., Querino V.A., Nery Jr. N., Reis M.G., Wunder Jr E.A., Diggle P.J. & Ko A.I. 2018. Spatial and temporal dynamics of pathogenic *Leptospira* in surface waters from the urban slum environment. *Water Res.* 130:176-84. <<https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.11.068>> <PMid: 29220718>
- Castro J.R., Salaberry S.R.S., Souza M.A. & Lima-Ribeiro A.M.C. 2011. Predominant *Leptospira* spp. serovars in serological diagnosis of canines and humans in the city of Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 44(2):217-22. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822011005000012>>
- Castro J.R., Souza M.A., Neto A.B.C., Moreira R.Q., Salaberry S.R.S., Guimarães E.C. & Lima A.M.C. 2015. Presence of antibodies against *Leptospira* spp. in dogs of Uberlândia, MG, Brazil. *Biosci. J.* 31(4):1183-8. <<https://doi.org/10.14393/BJ-v31n4a2015-26173>>
- Cumberland P., Everard C.O.R. & Levett P.N. 1999. Assessment of the efficacy of an IgM-ELISA and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 61(5):731-4. <<https://doi.org/10.4269/ajtmh.1999.61.731>> <PMid: 10586903>
- Dohoo IR, Martin W & Stryhn H. 1996. *Veterinary Epidemiologic Research*. Atlantic Veterinary College, Charlottetown.
- Ellis WA. 2015. Animal leptospirosis. *Curr Top Microbiol Immunol.* 387:99-137. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8_6> <PMid: 25388134>
- Fernandes A.R.F., Costa D.F., Andrade M.R., Bezerra C.S., Mota R.A., Alves C.J., Langoni H. & Azevedo S.S. 2018a. Seropositivity and risk factors for leptospirosis, toxoplasmosis and neosporosis in the canine population of Paraíba state, northeastern Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 38(5):957-66. <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5137>>
- Fernandes A.R.F., Costa D.F., Pimenta C.L.R.M., Araújo K.N., Silva R.B.S., Melo M.A., Langoni H., Mota R.A. & Azevedo S.S. 2018b. Occurrence and risk factors of zoonoses in dogs and owners in Sertão, Paraíba State, Northeastern Brazil. *Semina: Ciênc. Agrár.* 39(3):1057-66. <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n3p1057>>
- Freitas J.C., Silva F.G., Oliveira R.C., Delbem A.C.B., Müller E.E., Alves L.A. & Teles P.S. 2004. Isolation of *Leptospira* spp. from dogs, bovine and swine naturally infected. *Cienc. Rural.* 34(3): 853-6. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782004000300030>>
- Freire I.M.A., Vargas R. & Lilenbaum W. 2008. Hepatic biochemistry alterations in dogs with naturally occurring acute leptospirosis determined by *Icterohaemorrhagiae* serogroup. *Cienc. Rural* 38(9):2630-2. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008005000020>>
- Higino S.S.S., Azevedo S.S., Alves C.J., Figueiredo S.M., Silva M.L.C.R. & Batista C.S.A. 2010. Frequência de leptospirose em ovinos abatidos no município de Patos, Paraíba. *Arq. Inst. Biol.* 77(3):525-527.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Panorama [online]. 2010. Available from: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/panorama>>
- Haake D.A. & Levett P.N. 2015. Leptospirosis in Humans. *Curr Top Microbiol Immunol.* 387:65-97. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8_5> <PMid: 25388133>
- Hafemann D.C.M., Merlini L.S., Gonçalves D.D., Fortes M.S., Navarro I.T., Chiderolli R.T., Freitas J.C., Gonçalves A.P.P., Rosa G. & Sposito, P. H. 2018. Detection of anti-*Leptospira* spp., anti-*Brucella* spp., and anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in stray dogs. *Semina: Ciênc. Agrár. Londrina*, 39(1):167-176. <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n1p167>>
- Higino S.S.S., Alves C.J., Santos C.S.A.B., Vasconcellos S.A., Silva M.L.C.R., Brasil A.W.L., Pimenta, C.L.R.M. & Azevedo S.S. 2012. Prevalência de leptospirose em caprinos leiteiros do semiárido paraibano. *Pesq. Vet. Bras.* 32(3):199-203. <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012000300003>>

- Higino S.S.S., Santos F.A., Costa D.F., Santos C.S.A.B., Silva M.L.C.R., Alves C.J. & Azevedo S.S. 2013. Flock-level risk factors associated with leptospirosis in dairy goats in a semi-arid region of Northeastern Brazil. *Prev. Vet. Med.* 109:158– 161. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.09.005>>
- Lane A.B. & Dore M.M. 2016. Leptospirosis: A clinical review of evidence based diagnosis, treatment and prevention. *World J Clin Infect Dis.* 6(4):61-66. <<https://doi.org/10.5495/wjcid.v6.i4.61>>
- Lemos J.P., Melo C.B. & Viegas S.A.R.A. 2010. Análise sorológica de *Leptospira* spp. em cães errantes no município de Aracaju. *Rev. cient. eletrônica med. vet.* 8(14):1-16. Available from: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/aYYGdw26Z6tk96y_2013-6-25-14-42-40.pdf>
- Martinez B.A.F., Leotti V.B., Silva, G.S., Nunes, L.N., Machado, G. & Corbellini1, L.G. 2017. Odds Ratio or Prevalence Ratio? An Overview of Reported Statistical Methods and Appropriateness of Interpretations in Cross-sectional Studies with Dichotomous Outcomes in Veterinary Medicine. *Frontiers in Veterinary Science.* 4:1-8.
- Mascoli R., Soto F.R.M., Bernardi F., Ito F.H., Pinheiro S.R., Guilloux A.G.A., Azevedo S.S., Fernandes A.R.F., Keid L.B., Morais Z.M., Souza G.O. & Vasconcellos S.A. 2016. Prevalence and risk factors for leptospirosis and brucellosis in the canine population of the Tourist Resort of Ibiúna, State of São Paulo, Brazil. *Arq. Inst. Biol.* 83:1-7. <<http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657000842014>>
- Miotto BA, Guilloux AGA, Tozzi BF, Moreno LZ, Hora AS, Dias RA, Heinemann MB, Moreno AM, Filho AFS, Lilenbaum W, Hagiwara MK. 2018a. Prospective study of canine leptospirosis in shelter and stray dog populations: Identification of chronic carriers and different *Leptospira* species infecting dogs. *PLoS One.* 13(7):e0200384. <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0200384>>
- Miotto B.A., Tozzi B.F., Penteadó M.S., Guilloux A.G.A., Moreno L.Z., Heinemann M.B., Moreno A.M., Lilenbaum W. & Hagiwara M.K. 2018b. Diagnosis of acute canine leptospirosis using multiple laboratory tests and characterization of the isolated strains. *BMC Vet. Res.* 14(222):1-9. <<https://doi.org/10.1186/s12917-018-1547-4>>
- Miraglia F., Moreno L.Z., Morais Z.M., Langoni H., Shimabukuro F.H., Dellagostin O.A., Hartskeerl R., Vasconcellos S.A. & Moreno A.M. 2015. Characterization of *Leptospira interrogans* serovar Pomona isolated from swine in Brazil. *J Infect Dev Ctries.* 2015;9(10):1054–1061. <<http://dx.doi.org/doi:10.3855/jidc.5507>>
- Morikawa V.M., Bier D., Pellizzaro M., Ullmann L.S., Paploski I.A.D., Kikuti M., Langoni H., Biondo A.W. & Molento M.B. 2015. Seroprevalence and seroincidence of *Leptospira* infection in dogs during a one-year period in an endemic urban area in Southern Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 48(1):50-55. <<http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0213-2014>>
- Noordhuizen J.P.T.M., Frankena K., Van Der Hoofd C.M. & Graaf E.A.M. 1997. Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology. Wageningen Pers, Wageningen.
- OIE - World Organisation for Animal Health [online]. 2018. Leptospirosis: Terrestrial Manual. p.503-516. Available from: <https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.12_LEPTO.pdf>
- OIE - World Organisation for Animal Health [online]. 2019. One Health “at a glance”. Available from: <<https://www.oie.int/en/for-the-media/onehealth/>>
- Oliveira S.T., Messick J.B., Biondo A.W., Santos A.P., Stedile R., Dalmolin M.L., Guimarães A.M.S., Mohamed A.S., Riediger I.N. & González F.H.D. 2012. Exposure to *Leptospira* spp. in Sick Dogs, Shelter Dogs and Dogs from an Endemic Area: Points to Consider. *Acta Sci Vet.* 40(3):1-7. Available from: <<http://www.ufrgs.br/actavet/40-3/PUB%201056.pdf>>
- Oliveira L.A., Zaniolo M.M., Dias E.H., Brandão H.B.S., Rubio K.A.J., Ferreira B.P.M., Nakamura A.Y., Chideroli R.T., Freitas J.C. & Gonçalves D.D. 2016. Leptospirosis and brucellosis seroepidemiology in sheep and dogs from non-mechanized rural properties in the northwestern region in the state of Paraná. *Semina: Ciênc. Agrár.* 37(5):3147-58. <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n5p3147>>

- Paz G.S., Rocha K.S., LIMA M.S., Jorge E.M., Pantoja J.C.F., Moraes C.C.G. & Langoni H. Seroprevalence for brucellosis and leptospirosis in dogs from Belém and Castanhal, State of Pará, Brazil. 2015. *Acta Amazon.* 45(3):265–70. <<http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392201403486>>
- Pedersen K., Anderson T.D., Maison R.M., Wiscomb G.W., Pipas M.J., Sinnett D.R., Baroch J.A., Gidlewski T. 2018. *Leptospira* antibodies detected in wildlife in the USA and the US virgin islands. *J. Wildl. Dis.* 54(3):450-459. <<https://doi.org/10.7589/2017-10-269>>
- Pimenta C.L.R.M., Bezerra, C.S., Morais D.A., Silva M.L.C.R., Nogueira D.B., Costa D.F., Santos C.S.A.B., Higino S.S.S., Alves J.C. & Azevedo S.S. 2019. Seroprevalence and predominant serogroups of *Leptospira* sp. in serological tests of ruminants in northeastern Brazil. *Semina: Ciênc. Agrár.*, 40(4):1513-1522. <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n4p1513>>
- Pinto-Ferreira F., Pasquali A.K.S., Thomaz-Soccol V., Mitsuka-Breganó R., Caldart E.T., Leandro A.S., Chiyo L., Pozzolo E.M., Cubas P., Giordano L.G.P., Petterle R.R. & Navarro I.T. 2019. Epidemiological relevance of dogs for the prevention of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Leptospira* spp. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 28(3):383-94. <<http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612019043>>
- Porto K.C., Cabral J.J.P. & Tabarelli M. 2004. Brejos de altitude em Pernambuco e Paraíba: história natural, ecologia e conservação [online]. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. Available from: <<http://www.terrabrasil.org.br/ecotecadigital/pdf/brejos-de-altitude-em-pernambuco-e-paraiba-pdf>>
- Romero E.C., Bernardo C.C.M. & Yasuda P.H. 2003. Human leptospirosis: a twenty-nine-year serological study in São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.* 45(5):245-8. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652003000500002>>
- Scialfa E., Bolpe J., Bardón J.C., Ridao G., Gentile J. & Gallicchio O. 2010. Isolation of *Leptospira interrogans* from suburban rats in Tandil, Buenos Aires, Argentina. *Rev Argent Microbiol.* 42(2):126-8. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0325-75412010000200012>>
- SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação. 2017. Dados epidemiológicos Sinan: Doenças e Agravos de Notificação - De 2007 em diante [online]. Available from: <<http://portalsinan.saude.gov.br/dados-epidemiologicos-sinan>>
- Silva E.R.D.F.S., Castro V., Mineiro A.L.B.B., Pianti M.G., Martins G.H.C., Santana M.V., Brito L.M. & Silva S.M.M.S. 2018. Análise sociodemográfica e ambiental para ocorrência de anticorpos anti *Leptospira* em cães de Teresina, Piauí, Brasil. *Ciênc. saúde coletiva.* 23(5):1403-14. <<http://dx.doi.org/10.1590/1413-81232018235.19532016>>
- Silva E.R.D.F.S., Castro V., Pianti M.G., Gonçalves L.M.F., Sobrinho Jr E.P.C., Drumond K.O. & Mineiro A.L.B.B. 2017a. Occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in dogs from Teresina, Piauí, Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 54(1):88-91. <<http://dx.doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2017.110588>>
- Silva J.D., Alves J.R.A., Costa D.F., Correia E.L.B., Melo D.H.M., Higino S.S.S., Azevedo S.S. & Alves C.J. 2017b. Epidemiological characterization and risk factors associated with *Leptospira* infection in dogs from rural settlements in the semi-arid region of Northeast Brazil. *Semina: Ciênc. Agrár.* 38(4):2531-41. <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n4Supl1p2531>>
- Trueba G., Zapata S., Madrid K., Cullen P. & Haake D. 2004. Cell aggregation: a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. *International Microbiology.* 7(1):35–40. <PMid: 15179605>
- Thrusfield M. 2007. *Veterinary Epidemiology.* Wiley Blackwell, Oxford.
- Vieira A.S., Azevedo M.I.N., D'Andrea P.S., Vilela R.V. & Lilenbaum W. 2019. Neotropical wild rodents *Akodon* and *Oligoryzomys* (Cricetidae: Sigmodontinae) as important carriers of pathogenic renal *Leptospira* in the Atlantic forest, in Brazil. *Res Vet Sci.* 124:280-83. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.04.001>> <PMid: 31004919>
- Vieira A.S., Narduche L., Martins G., Péres I.A.H.F., Zimmermann N.P., Juliano R.S., Pellegrin A.O. & Lilenbaum W. 2016. Detection of wild animals as carriers of *Leptospira* by PCR in the Pantanal biome, Brazil. *Acta Trop.* 163:87-89. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.08.001>> <PMid: 7496621>

Zar JH. 1999. Biostatistical Analysis. 4^a ed. Prentice-Hall, New Jersey.

Zarantonelli L., Suanes A., Meny P., Buroni F., Nieves C., Salaberry X., Briano C., Ashfield N., Silveira C.S., Dutra F., Easton C., Fraga M., Giannitti F., Hamond C., Macías-Rioseco M., Menéndez C., Mortola A., Picardeau M., Quintero J., Cristina Ríos C., Rodríguez V., Romero A., Varela G., Rivero R., Schelotto F., Riet-Correa F. & Buschiazzi A. 2018. Isolation of pathogenic *Leptospira* strains from naturally infected cattle in Uruguay reveals high serovar diversity, and uncovers a relevant risk for human leptospirosis. PLoS Negl Trop Dis. 12(9):1-22. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006694>

Figure captions

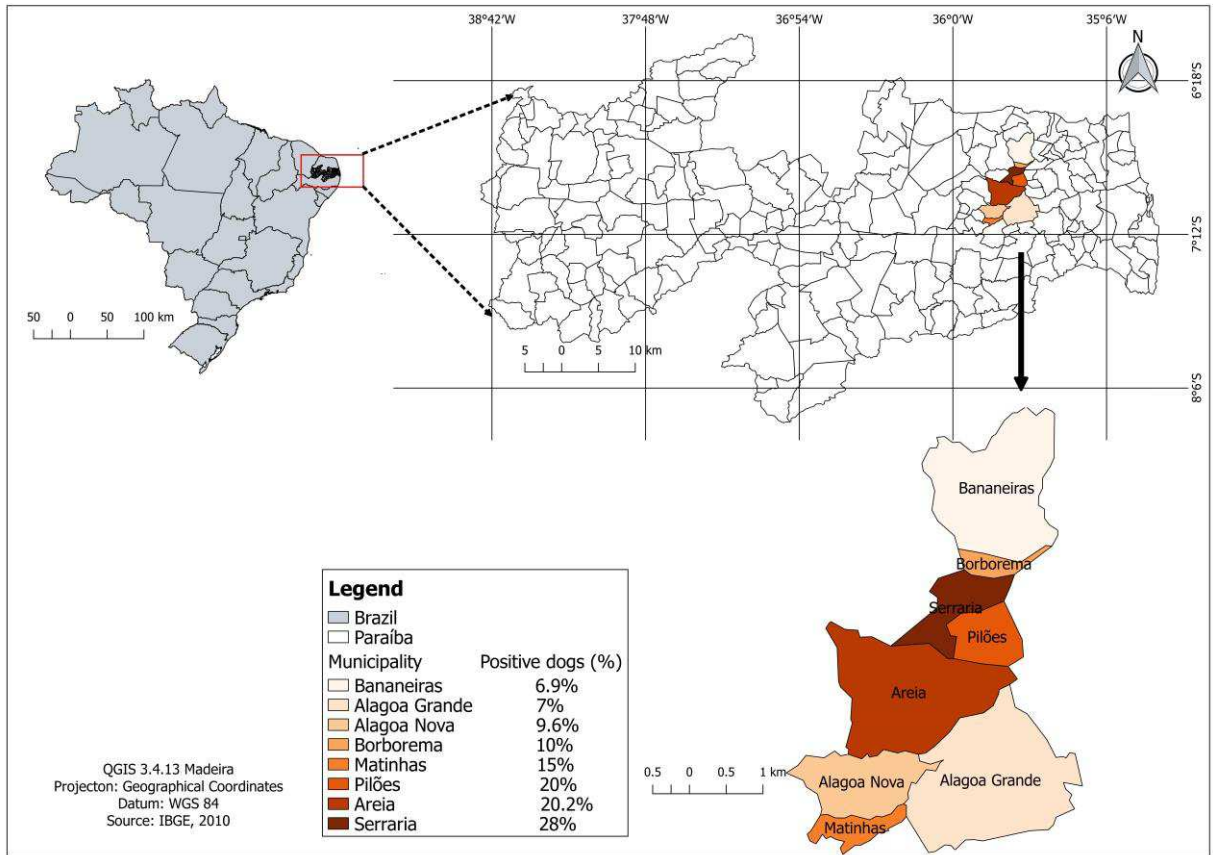


Fig. 1. Geographic representation of the municipalities in the Brejo paraibano microrregion and respective seropositivity to *Leptospira* sp. in dog population.

Table 1. Numbers of inhabitants, minimum number of dogs to be sampled, sampled dogs, positive animals in each municipality and sorogrupos detected in the Brejo Paraibano microregion

| Municipality | Inhabitants* | Minimum number of dogs to be sampled | Sampled dogs | Positive dogs (%) | Serogroups detected |
|---------------------|---------------------|---|---------------------|--------------------------|--|
| Alagoa Grande | 28,479 | 94 | 100 | 7 (7.0) | Icterohaemorrhagiae |
| Areia | 23,829 | 78 | 79 | 16 (20.2) | Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Serjoe |
| Bananeiras | 21,851 | 72 | 72 | 5 (6.9) | Icterohaemorrhagiae |
| Alagoa Nova | 19,681 | 65 | 73 | 7 (9.6) | Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Pomona |
| Serraria | 6,238 | 21 | 25 | 7 (28) | Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Grippotyphosa |
| Pilões | 6,978 | 23 | 25 | 5 (20) | Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Pomona |
| Borborema | 5,111 | 17 | 20 | 2 (10) | Autumnalis |
| Matinhas | 4,321 | 14 | 20 | 3 (15) | Icterohaemorrhagiae |
| Total | 116,488 | 384 | 414 | 52 (12.6) | - |

*Source: IBGE (2010)

Table 2. Frequency of anti-*Leptospira* antibodies according to sorogrupo detected in 52 dogs in the Brejo Paraibano microregion, from May to October 2017

| Serogroup | Titration | | | | | Total (%) |
|---------------------|-----------|-----|-----|-----|-----|-----------|
| | 50 | 100 | 200 | 400 | 800 | |
| Icterohaemorrhagiae | 3 | 9 | 13 | 9 | 6 | 40 (76.9) |
| Autumnalis | 2 | 1 | 3 | - | 1 | 7 (13.5) |
| Pomona | - | 1 | - | - | 1 | 2 (3.8) |
| Grippotyphosa | - | - | 1 | - | 1 | 2 (3.8) |
| Serjoe | - | - | 1 | - | - | 1 (1.9) |

Table 3. Univariable analysis on the factors associated with seroprevalence for leptospirosis among dogs in the Brejo Paraibano microregion

| Variable | Categories | Total No. of dogs | Positive dogs (%) | P-value |
|-----------------------------------|----------------------------|-------------------|-------------------|---------|
| Season | Dry | 223 | 18 (8.1) | 0.003* |
| | Rainy | 191 | 34 (17.8) | |
| Sex | Female | 193 | 19 (9.8) | 0.119* |
| | Male | 221 | 33 (14.9) | |
| Age | Up to 1 year | 89 | 3 (3.4) | <0.001* |
| | 1 – 5 years | 200 | 20 (10.0) | |
| | Over 5 years | 125 | 29 (23.2) | |
| Breed | With defined breed | 72 | 3 (4.2) | 0.018* |
| | Without defined breed | 342 | 49 (14.3) | |
| Owner's educational level | Illiterate/incomplete | 124 | 7 (5.6) | 0.005* |
| | Completed elementary | 290 | 45 (15.5) | |
| Disposal of garbage | Public collection | 395 | 44 (11.1) | <0.001* |
| | Vacant lots/on the streets | 19 | 8 (42.1) | |
| Presence of rodents | No | 104 | 9 (8.7) | 0.165* |
| | Yes | 310 | 43 (13.9) | |
| Type of water for consumption | Treated water | 218 | 14 (6.4) | <0.001* |
| | Untreated water | 196 | 38 (19.4) | |
| Characteristics of the yard | No/cement | 127 | 8 (6.3) | 0.011* |
| | Soil/ soil-cement | 287 | 44 (15.3) | |
| Condition of housing | Domiciled/Semi-domiciled | 332 | 29 (8.7) | <0.001* |
| | Free access to streets | 82 | 23 (28.0) | |
| Dog food | Commercial | 190 | 15 (7.9) | 0.008* |
| | Commercial + | 224 | 37 (16.5) | |
| Ectoparasite control | Yes | 48 | 3 (6.2) | 0.161* |
| | No | 366 | 49 (13.4) | |
| Deworming | Yes | 8 | 2 (25.0) | 0.284 |
| | No | 406 | 50 (12.3) | |
| Veterinary assistance | Yes | 41 | 2 (4.9) | 0.118* |
| | No | 373 | 50 (13.4) | |
| Animal with access to vacant lots | No | 177 | 8 (4.5) | <0.001* |
| | Yes | 237 | 44 (18.6) | |
| Contact with small ruminants | No | 386 | 47 (12.2) | 0.381 |
| | Yes | 28 | 5 (17.9) | |
| Contact with cattle | No | 403 | 47 (11.7) | 0.001* |
| | Yes | 11 | 5 (45.5) | |
| Contact with horses | No | 398 | 47 (11.8) | 0.021* |
| | Yes | 16 | 5 (31.2) | |
| Contact with wildlife | No | 139 | 3 (2.2) | <0.001* |
| | Yes | 275 | 49 (17.8) | |

*Variables selected for robust Poisson regression analysis.

Table 4. Factors associated with seroprevalence for leptospirosis among dogs in the Brejo Paraibano microregion, determined using robust Poisson regression analysis

| Variable category | Coefficient estimates | Standard error | Wald Chi-square | Prevalence ratio (PR) | 95% CI | P-value |
|---------------------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------------|---------------|----------------|
| Untreated water for consumption | 0.625 | 0.309 | 4.091 | 1.87 | 1.02; 3.43 | 0.043 |
| Rainy season | 0.660 | 0.2657 | 6.171 | 1.94 | 1.15; 3.26 | 0.013 |
| Male dog | 0.743 | 0.2655 | 7.835 | 2.10 | 1.25; 3.54 | 0.005 |
| Free access to streets | 0.767 | 0.3007 | 6.509 | 2.15 | 1.20; 3.89 | 0.011 |
| Contact with wildlife | 1,263 | 0.658 | 3.683 | 3.54 | 1.00; 12.85 | 0.050 |
| Age over 5 years | 1.438 | 0.5717 | 6.323 | 4.21 | 1.37; 12.91 | 0.012 |

Goodness of fit: Pearson Chi-square value = 312.78; degrees of freedom = 397; value/df = 0.788.

CAPÍTULO III

Zoonotic smooth and rough *Brucella* in dogs: seroprevalence and associated factors in an Atlantic Rainforest area of the state of Paraíba, Northeastern Brazil

(Semina: Ciências Agrárias, Qualis/CAPES: B1, Impact Factor: 0,372)

Zoonotic smooth and rough *Brucella* in dogs: seroprevalence and associated factors in an Atlantic Rainforest area of the state of Paraíba, Northeastern Brazil

***Brucella* zoonótica lisa e rugosa em cães: soroprevalência e fatores associados em área de Mata Atlântica do estado da Paraíba, Nordeste brasileiro**

Maria das Graças da Silva Bernardino¹; Edijanio Galdino da Silva¹; Denise Batista Nogueira¹; Débora Ferreira dos Santos Angelo²; Vanda Teixeira Jales Diniz³; Severino Silvano dos Santos Higino¹; Alexandre José Alves⁴; Carolina de Sousa Américo Batista Santos, Clebert José Alves, Sergio Santos de Azevedo^{1*}

Highlights:

- Prevalência real de 12,6% para *B. canis* em cães de uma área de Mata Atlântica do estado da Paraíba, Nordeste brasileiro;
- Prevalência real de 22,8% para *B. abortus* em cães de uma área de Mata Atlântica do estado da Paraíba, Nordeste brasileiro;
- Sugere-se adoção de medidas de controle e prevenção e maiores cuidados no manejo dos animais, especialmente em cães idosos.

Abstract

Canine brucellosis is an infectious disease caused by bacteria of the genus *Brucella*, with worldwide distribution and zoonotic impact. In humans and animals, it is an underreported, neglected disease and difficult to diagnose clinically. In the present study, the seroprevalence of *B. canis* and *B. abortus* in dogs from the microregion of Brejo paraibano and the factors associated with seropositivity were determined. A total of 386 dogs over three months of age, of both sexes and varied breeds were used. For the search for anti-*B. canis* antibodies the agar gel immunodiffusion test (IDGA) was used as a screening and IDGA+2ME as confirmatory test, and to search for anti-*B. abortus* antibodies the Rose Bengal test (RBT) test was used. Apparent and real prevalences were calculated, and robust Poisson regression was used to identify factors associated with prevalence. The real prevalence of *B. canis* was 12.6% and of *B. abortus* was 22.8%. The factors associated with seropositivity for *B. canis* were age greater than 10 years (prevalence ratio; PR = 6.38; $P = 0.024$) and dogs bred in the yard (PR = 5.20; $P = 0.035$) and for *B. abortus* was not to change the water of the animals every day (PR = 1.48; $P = 0.033$). It can be concluded that the prevalence of *B. canis* and *B. abortus* in dogs from the microregion of Brejo Paraibano is high, which warns of the need for the adoption of control and

prevention measures, as well as greater care in the management of animals is suggested, especially elderly dogs.

Key words: *Brucella canis*. *Brucella abortus*. Public Health. Epidemiology. Dogs

Resumo

A brucelose canina é uma doença infecciosa causada por bactérias do gênero *Brucella*, com distribuição mundial e de caráter zoonótico. Em humanos e animais, é uma doença subnotificada, negligenciada e de difícil diagnóstico clínico. No presente estudo foram determinadas as soroprevalências de *B. canis* e *B. abortus* em cães da microrregião do Brejo paraibano e os fatores associados com a soropositividade. Foram utilizados 386 cães com mais de três meses de idade, de ambos os sexos e raças variadas. Para a pesquisa de anticorpos anti-*B. canis* foi utilizado o teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) como triagem e IDGA+2ME como confirmatório, e para a pesquisa de anticorpos anti-*B. abortus* foi utilizado o teste do antígeno acidificado tamponado (AAT). Foram calculadas as prevalências aparente e real, e para a identificação de fatores associados com a prevalência foi empregada regressão robusta de Poisson. A prevalência real de *B. canis* foi de 12,6% e de *B. abortus* foi 22,8%. Os fatores associados com a soropositividade para *B. canis* foram idade maior que 10 anos (razão de prevalência; RP = 6,38; $P = 0,024$) e cães criados presos no quintal (RP = 5,20; $P = 0,035$) e para *B. abortus* foi não trocar a água dos animais todos os dias (RP = 1,48; $P = 0,033$). Conclui-se que a prevalência de *B. canis* e *B. abortus* em cães da microrregião do Brejo paraibano é alta, o que alerta para a necessidade de adoção de medidas de controle e prevenção, bem como é sugerido maiores cuidados no manejo dos animais, sobretudo cães idosos.

Palavras-chave: *Brucella canis*. *Brucella abortus*. Saúde Pública. Epidemiologia. Cães

Introdução

A brucelose canina é uma doença infecciosa com distribuição mundial e de caráter zoonótico, causada por bactérias do gênero *Brucella*. Os cães são acometidos principalmente por *B. canis*, mas também são susceptíveis à infecção por *B. abortus* (Megid et al., 2007), *B. melitensis* (Hinich et al., 2010) e *B. suis* (James et al., 2017). Essas bactérias afetam principalmente o trato reprodutivo dos animais, causando infertilidade, aborto, retenção de placenta, nascimento de filhotes fracos, natimortos e nos machos causa orquite e epididimite (Xavier, Costa, Paixão e Santos, 2009). A transmissão nos cães ocorre pelo contato direto com fetos abortados, restos placentários, secreções vaginais ou sêmen infectados (Rodrigues, Bezerra, Medeiros e Filgueira, 2017) e nos humanos a maioria dos casos ocorre pelo consumo de laticínios ou exposição a fluídos e tecidos de animais infectados (Arenas-Gamboa et al., 2016).

No contexto de saúde pública, a estreita relação entre o homem e o cão pode acarretar a transmissão de brucelose (Dentinger et al., 2015). No homem, a infecção tende a ser negligenciada e subdiagnosticada por ser uma doença de difícil diagnóstico clínico devido a diversidade e inespecificidade dos sintomas (Roushan, Ebrahimipour e Moulana, 2016). Associado a isso, estudos de prevalência em humanos são escassos no Brasil, o que dificulta o entendimento da epidemiologia da doença no país. Em Salvador, foi evidenciado em uma comunidade urbana a soropositividade de 13% para *B. abortus* e 4,6% para *B. canis* (Angel, Ristow, Ko e Di-Lorenzo, 2012). Em Alagoas, foi demonstrada uma prevalência de 4,4% para *Brucella* lisa e rugosa em humanos (Soares et al., 2015).

Em cães, a prevalência de *B. canis* varia muito dependendo da localidade (Rodrigues et al., 2017), enquanto os inquéritos sorológicos para *B. abortus* são raros. No estado da Paraíba, poucos estudos com cães foram realizados para *B. canis* (Alves et al., 2003; Vasconcelos et al., 2008; Fernandes et al., 2011) e apenas um estudo com *B. abortus* (Azevedo, Batista, Alves e Clementino, 2003). Além disso, não há estudos que indiquem a ocorrência da brucelose canina na microrregião do Brejo paraibano. Essa região possui características que podem influenciar na ocorrência da infecção, incluindo a presença de fragmentos de Mata Atlântica (Porto, Cabral e Tabarelli, 2004), alta pluviosidade (Agência Executiva de Gestão das Águas [AESAs], 2019) e uma vasta fauna de animais silvestres que podem ser comportar como reservatórios naturais (Zheludkov e Tsirelson, 2010). Diante disso, esse trabalho teve como objetivo determinar a soroprevalência de *B. canis* e *B. abortus* na população canina da microrregião do Brejo paraibano e identificar os fatores associados com a soropositividade.

Material e Métodos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, sob o protocolo de número 025/2017.

Esse estudo foi realizado com cães da área urbana da microrregião do Brejo paraibano, estado da Paraíba, Nordeste brasileiro. A região possui área territorial de 840.452 km² e população de 116.488 habitantes, e é composta por oito municípios: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões e Serraria (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [IBGE], 2010).

Para definir o número mínimo de animais a serem amostrados foi utilizada a fórmula para amostras aleatórias simples (Thrusfield, 2007), considerando os seguintes parâmetros: prevalência esperada de 50% (maximização da amostra), nível de confiança de 95% ($z = 1,96$) e erro amostral de 5%, o que resultou em um tamanho amostral mínimo de 384 cães. No entanto, foram utilizados 386 cães com mais de três meses de idade, de ambos os sexos e raças variadas. O número mínimo de cães a serem amostrados em cada município da microrregião foi definido proporcionalmente de acordo com o número de habitantes (Tabela 1).

O trabalho de campo foi realizado por uma equipe treinada através de visitas domiciliares aos residentes da microrregião. Os donos dos cães receberam explicações sobre os objetivos do estudo e, após concordarem em participar, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. A coleta das amostras foi realizada entre os meses de maio e outubro de 2017.

De cada animal foi coletada uma amostra de sangue e, após a remoção do coágulo, o soro foi transferido para microtubos de 1,5 mL e armazenado a -20 °C até o momento dos testes sorológicos. Um questionário foi aplicado aos proprietários para obter dados a serem utilizados na análise dos fatores associados à soroprevalência. As variáveis e respectivas categorias consideradas no questionário foram:

(a) Informações sobre os cães: sexo (fêmea, macho), idade (até um ano de idade, entre 2-10 anos, maior que 10 não), raça (sem raça definida, com raça definida), apresenta carrapatos (não, raramente, frequentemente), apresenta pulgas (não, raramente, frequentemente), castrado (sim, não), viu o animal acasalar? (não, sim), apresentou aborto, nascimento de natimortos ou fetos fracos? (não, sim);

(b) Informações sobre o proprietário e a residência: nível escolaridade (analfabeto/ ensino fundamental incompleto, ensino fundamental completo), renda (até um salário mínimo, entre um a dois salários mínimos, maior que dois salários mínimos), destino do lixo (coleta pública, terrenos baldios ou nas ruas), tipo de água para consumo (tratada, não tratada), onde compra carne? (açougue, feira) e quintal (não tem/cimentado, terra/ou parte na terra);

(c) Características da criação dos animais: tipo de criação (domiciliado sem acesso à rua; domiciliado com acesso à rua; livre acesso à rua), alimentação do animal (ração, comida caseira + ração), controle de ectoparasitas (sim, não), desparasitação (sim, não), vacinação para viroses (sim, não), vacinação para raiva (sim, não), banhos (sim, não), destino das fezes para animais (lixo, outros), passe com animais (não, sim), realizar limpeza no ambiente do animal (diária, semanal, quinzenal, mensal), troca de água da vasilha do animal (diário, não troca todos os dias), assistência veterinária (sim, não), animal com acesso a terrenos baldios (sim, não); possui cães (até dois cães, três ou quatro cães, acima de quatro cães), possui gatos (não, sim), contato com pequenos ruminantes (sim, não), contato com bovinos (sim, não), contato com equinos (sim, não) e contato com animais silvestres (sim, não).

Para a pesquisa de anticorpos anti-*B. canis* foi realizado a técnica de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) utilizando kits produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR) (Alton, Jones, Angus e Verger, 1988). A técnica foi executada de acordo com as recomendações do fabricante, utilizando-se antígeno de lipopolissacarídeos e proteínas de *Brucella ovis*, amostra Reo 198. As leituras foram realizadas com 24, 48 e 72 horas, mediante sistema de iluminação com luz indireta e fundo escuro, sendo considerado o resultado da leitura de 72 horas. O soro cuja linha de precipitação que apresentou identidade com a linha formada pelo soro padrão foi considerado positivo. O soro foi

considerado negativo quando não houve formação de linha de precipitação ou a linha formada não apresentou identidade com a do soro padrão. Para confirmação, a mesma técnica foi aplicada em soros tratados pelo 2-mercaptoetanol (IDGA+2-ME), conforme descrito por Azevedo et al. (2004). A análise foi realizada no Laboratório de Doenças Transmissíveis do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB.

Para a pesquisa de anticorpos anti-*B. abortus* sp. foi utilizada a técnica de Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) (Instituto de Tecnologia do Paraná - TECPAR, Brasil) (Alton et al., 1988). O antígeno consiste em suspensão inativada de *B. abortus* amostra 1119-3, corada pelo Rosa de Bengala, diluída 8,0% em solução tampão pH $3.65 \pm 0,05$ e devido ao seu pH, algumas aglutininas inespecíficas são inibidas, proporcionando aumento da especificidade do teste. A técnica foi realizada segundo as recomendações do fabricante sendo consideradas positivas as amostras que apresentaram aglutinação. A análise foi realizada no Laboratório de Preventiva, Hospital Veterinário, Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB.

As prevalências aparente e real foram calculadas de acordo com Noordhuizen, Frankena, Van Der Hoofd e Graaf (1997). A prevalência aparente foi obtida pela razão entre o número de animais sororreativos e o número total de animais, e a prevalência real foi estimada pelo ajuste da prevalência aparente para a sensibilidade (52,94%) e especificidade (98,7%) do protocolo de diagnóstico de *B. canis* (Keid et al., 2009; Keid, 2001), e sensibilidade (100%) e especificidade (96,29%) para *B. abortus* (Talukder, Samad e Rahman, 2011), conforme a seguinte fórmula:

$$PR = \frac{(PA + ESP - 1)}{(SEN + ESP - 1)}$$

Onde,

PR = Prevalência real

PA = Prevalência aparente

ESP = Especificidade

SEN = Sensibilidade

As informações obtidas por meio de questionários epidemiológicos e testes sorológicos foram armazenadas em um banco de dados criado com o software Microsoft Excel. Para realizar a análise dos fatores associados à soropositividade, foi realizada inicialmente uma análise univariável, na qual cada variável independente passou por uma análise de associação em relação à variável dependente (soropositividade nos testes sorológicos). Variáveis com valor de $P \leq 0,2$ no teste do qui-quadrado (Zar, 1999) foram selecionadas para análise multivariável usando regressão robusta de Poisson. A colinearidade entre variáveis independentes foi verificada por uma análise de correlação; para as variáveis com forte colinearidade (coeficiente de correlação $> 0,9$), uma das duas variáveis foi

excluída da análise múltipla de acordo com a plausibilidade biológica (Dohoo, Martin e Stryhn, 2003). Para avaliar o ajuste do modelo de regressão foi usado o teste de qui-quadrado de Pearson, e a significância do modelo foi verificada com o teste Omnibus. O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5% e o software utilizado foi o SPSS for Windows versão 20.0.

Resultados

Das 386 amostras examinadas para *B. canis* 99 amostras foram reagentes no IDGA, das quais 30 foram positivas no IDGA+ME, constatando uma prevalência aparente de 7,8% e prevalência real de 12,6%. Das 366 amostras examinadas para *B. abortus* 94 foram reagentes no AAT, com prevalência aparente de 25,7% e prevalência real de 22,8%. Dependendo da localidade, a prevalência de *B. canis* variou de 0-15,5% e *B. abortus* de 13,8-39,1% (Tabela 1 e Figura 1).

Na Tabela 2 são apresentados os fatores associados com a prevalência de *B. canis* e *B. abortus* que foram selecionados na análise univariável. Foram selecionadas, para *B. canis*, as variáveis tipo de criação ($P = 0,006$), idade ($P = 0,042$), banhos no animal ($P = 0,096$) e infestação severa por pulgas ($P = 0,052$). Para *B. abortus*, raça ($P = 0,105$), idade ($P = 0,194$) e frequência da troca da água da vasilha do animal ($P = 0,123$) foram selecionadas.

Na análise de regressão de Poisson robusta foram confirmados dois fatores associados à sororreatividade para *B. canis* e *B. abortus* (Tabela 3). Para *B. canis*, a idade maior que 10 anos (razão de prevalência; RP = 6,38; $P = 0,024$) e cães criados presos no quintal (RP = 5,20; $P = 0,035$) foram associados, e para *B. abortus*, as variável associada foi não trocar a água dos animais todos os dias (RP = 1,48; $P = 0,033$). Tanto para *B. canis* quanto para *B. abortus* os modelos apresentaram bom ajuste.

Discussão

A alta prevalência real de *B. canis* e *B. abortus* em cães da microrregião do Brejo paraibano é de caráter preocupante devido ao risco à saúde pública, tendo em vista que estas espécies podem causar doença nos humanos (Dentinger et al., 2015; Saddique et al., 2019). Todas as cidades da microrregião apresentaram cães soropositivos para *B. abortus*, evidenciando que o agente está disseminado por toda a região. Tais dados alertam para a adoção de medidas de controle e prevenção da doença em cães, com o intuito de evitar sua propagação, além de prevenir a exposição de seres humanos e outras espécies animais.

Cães infectados com *B. canis*, além das lesões no trato reprodutivo, podem apresentar grande diversidade de sinais clínicos, que incluem letargia, fadiga, perda de peso, linfadenopatia, esplenomegalia, uveíte, claudicação, fraqueza muscular, entre outros (Kauffman e Petersen, 2019). A inespecificidade dos sinais clínicos torna a doença de difícil diagnóstico clínico, fazendo com que seja facilmente confundida com outras doenças e, conseqüentemente, subnotificada. Diante da alta

prevalência de cães sororreagentes para *B. canis* observada nesse estudo, sugere-se a importância da utilização de diagnóstico sorológico de rotina em cães a fim de identificar fontes de infecção e reduzir os riscos à saúde pública.

A prevalência de *B. canis* observada nesse estudo foi duas vezes superior as prevalências encontradas em outros locais da Paraíba, sendo observado uma sorreatividade de 3,6% e 3,1% em cães residentes no município de Patos (Alves et al., 2003; Fernandes et al., 2011) e 3,5 % em cães de Campina Grande (Vasconcelos et al., 2008), e isso pode estar relacionado às características da região estudada, que podem facilitar a manutenção da bactéria no ambiente (Brasil, 2006), incluindo a alta umidade e temperatura amena em grande parte do ano (Agência Executiva de Gestão das Águas [AESAs], 2019).

Nesse estudo, optou-se pelo emprego do AAT para a identificação de cães sororreativos para *B. abortus* por se tratar de uma técnica que possui elevadas sensibilidade e especificidade (Talukder et al., 2011). Além disso, em bovinos e pequenos ruminantes, o AAT demonstrou melhor desempenho que o teste de aglutinação em tubos (Chachra, Saxena, Kaur e Chandra, 2009; Sadhu et al. 2015) e boa aplicabilidade em humanos, pois possui excelente sensibilidade e especificidade para detectar IgM, IgG e IgA de pacientes infectados com brucelose (Díaz, Casanova, Ariza e Moriyón, 2011).

Nesse estudo foi observada uma alta prevalência de cães sororreagentes para *B. abortus*, sendo superior a prevalência observada em um estudo realizado no município de Patos, no qual foi constatado 6,8% de sorreatividade em cães através do AAT (Azevedo et al., 2003). É possível que a alta prevalência de *B. abortus* observada em cães da microrregião do Brejo Paraibano esteja relacionada a presença de bovinos infectados na região, uma vez que no estudo epidemiológico oficial para brucelose bovina no estado da Paraíba (Clementino et al., 2016) foi evidenciado que a mesorregião do Agreste e Mata Paraibana, que inclui a área em estudo, apresentou a maior prevalência de bovinos sororreativos para *B. abortus*. Diante disso e levando em consideração as vias de transmissão da doença (Rodrigues et al., 2017), é possível que os cães da região estejam tendo contato com fetos ou restos placentários de bovinos infectados, ou estejam se alimentando com laticínios ou carne crua bovina infectada com o patógeno.

Adverte-se ainda que a região possui vários fragmentos de Mata Atlântica próximos às áreas urbanas e é composta por uma grande biodiversidade de fauna e flora, o que aumenta as chances de os cães domésticos terem contato com animais silvestres que podem estar atuando como mantenedores da bactéria. Em estudo realizado por Azevedo et al. (2010) foram detectadas 26,6% de raposas (*Pseudalopex vetulus*) sororreagentes para *B. abortus* no AAT na região do semiárido paraibano. Kosoy e Goodrich (2018) também alertaram que carnívoros selvagens geralmente carregam os mesmos patógenos que seus parentes domesticados.

Quanto aos fatores associados com a soropositividade para *B. canis*, observou-se que cães com idade maior que 10 anos apresentaram mais chances de serem soropositivos (RP = 6,38). Esse achado pode estar relacionado ao maior tempo de exposição ao agente quando comparado aos animais mais

jovens. Associado a isso, ressalta-se que 87% dos animais adultos amostrados nesse estudo não eram castrados. Adverte-se também que a transmissão venérea é uma das mais importantes, devido ao contato com fluídos vaginais (Keid et al., 2007), urina e sêmen infectados (Volkweis et al., 2018). Dessa forma, quanto mais velho o animal mais chances de acasalamentos e variedade de parceiros sexuais, e conseqüentemente mais chances de contágio com o agente etiológico.

Quanto a forma de criação dos animais, observou-se que cães criados presos no quintal apresentaram mais chances de serem soropositivos para *B. canis* (RP = 5,20). Associado a isso, ressalta-se que esses animais não tinham acesso à rua e possuíam pouco contato com humanos devido à alta agressividade, e grande parte dos quintais das casas da região eram delimitados apenas com cercas, deixando esses animais acessíveis ao contato íntimo com outros cães que possivelmente adentram nesses quintais, estando dessa forma suscetíveis a diversas doenças infecciosas.

Não trocar a água dos animais diariamente também aumentou as chances de soropositividade para *B. abortus* (RP = 1,48). Fernandes et al. (2011) também verificaram que falhas nas práticas de limpeza do ambiente dos animais foram associadas com a soropositividade. Isso pode estar relacionado à contaminação da água por fluídos do trato reprodutivo contaminados com o agente infeccioso e conseqüentemente manutenção da bactéria por falhas na troca da água. Relacionado a isso, sabe-se que essas bactérias podem sobreviver meses em água potável (Brasil, 2006), o que reforça a importância da troca de água da vasilha do animal diariamente.

Conclusão

Os resultados indicaram altas prevalências de cães soropositivos para *B. canis* e *B. abortus* na microrregião do Brejo paraibano e alertam para necessidade de adoção de medidas de controle e prevenção nessa espécie. Com base na análise de associação, sugere-se maiores cuidados no manejo dos animais, especialmente em cães idosos.

Declaração de conflitos de interesse

Todos os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

- AESA - Agência Executiva de Gestão das Águas. (2019). *Meteorologia – Chuvas [online]*. Retrieved from <http://www.aesa.pb.gov.br/aesa-website/meteorologia-chuvas/>
- Alton, GG, Jones, LM, Angus, RD & Verger, JM. (1988). *Techniques for the brucellosis laboratory*. Paris: INRA.

- Alves, CJ, Alves, FAL, Gomes, AAB, Azevedo, SS, Andrade, JSL & Santos, FA. (2003). Aspectos epidemiológicos de *Brucella canis* em Patos, Paraíba, Brasil. *Ciência Animal*, 13(1), 45-49.
- Angel, MO, Ristow, P, Ko, AI & Di-Lorenzo, C. (2012). Serological trail of Brucella infection in an urban slum population in Brazil. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 6(9): 675–9. doi: 10.3855/jidc.2347
- Arenas-Gamboa, AM, Rossetti, CA, Chaki, SP, Garcia-Gonzalez, DG, Adams, LG & Ficht, TA. (2016). Human Brucellosis and Adverse Pregnancy Outcomes. *Current Tropical Medicine Reports*, 3(4), 164–72. doi:10.1007/s40475-016-0092-0.
- Azevedo, SS, Batista, CSA, Alves, CJ & Clementino, IJ. (2003). Ocorrência de anticorpos contra *Brucella abortus* em cães errantes da cidade de Patos, estado da Paraíba, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, 70(4), 499-500.
- Azevedo, SS, Silva MLCR, Batista, CSA, Gomes, AAB, Vasconcellos, AS & Alves, CJ. (2010). Anticorpos anti *Brucella abortus*, anti *Brucella canis* e anti *Leptospira* spp. em raposas (*Pseudalopex vetulus*) do semiárido paraibano, Nordeste do Brasil. *Ciência Rural*, 40(1), 1-3. doi: 10.1590/S0103-84782009005000232
- Azevedo, SS, Vasconcellos, SA, Keid, LB, Grasso LMPS, Pinheiro SR, Mascoll R & Alves C.J. (2004). Comparação de três testes sorológicos aplicados ao diagnóstico da infecção de caninos por *Brucella canis*. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 41(2):106-112. doi: 10.1590/S1413-95962004000200005
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2006). *Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT)*. Brasília: MAPA/SDA/DSA.
- Chachra. D, Saxena, HM, Kaur, G, Chandra, M. (2009). Comparative efficacy of Rose Bengal plate test, standard tube agglutination test and Dot ELISA in immunological detection of antibodies to *Brucella abortus* in sera. *Journal of Bacteriology Research*, 1(3), 030-033.
- Clementino, IJ, Dias, RA, Amaku, M, Ferreira, F, Telles, EO, Heinemann, MB,... Azevedo, SS. (2016). Epidemiological situation of bovine brucellosis in the state of Paraíba, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 37(5), 3403-12. doi: 10.5433/1679-0359.2016v37n5Supl2p3403
- Dentinger, CM, Jacob, K, Lee, LV, Mendez, H.A., Chotikanatis, K, McDonough, PL,... Slavinski S.A. (2015). Human *Brucella canis* Infection and Subsequent Laboratory Exposures Associated with a Puppy, New York City, 2012. *Zoonoses Public Health*, 62(5), 407–14. doi:10.1111/zph.12163

- Díaz, R, Casanova, A, Ariza, J & Moriyón, I. (2011). The Rose Bengal Test in Human Brucellosis: A Neglected Test for the Diagnosis of a Neglected Disease. *Plos Neglected Tropical Diseases*, 5(4), e950. doi: 10.1371/journal.pntd.0000950
- Dohoo, IR, Martin, W & Stryhn, HE. (2003). *Veterinary epidemiologic research*. Charlottetown, P.E.I.: University of Prince Edward Island.
- Fernandes, ARF, Azevedo, SS, Piatti, RM, Pinheiro, ES, Genovez, ME, Azevedo, AS,... Alves C.J. (2011). Infecção por *Brucella canis* em cães atendidos em clínicas veterinárias de Patos, Paraíba, Brasil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(4), 1405-8. doi: 10.1590/S1517-83822011000400023
- Hinic, V, Brodard, I, Petridou, E, Filioussis, G, Contos, V, Frey, J & Abril, C. (2010). Brucellosis in a dog caused by *Brucella melitensis*. *Veterinary Microbiology*, 141(3-4), 391-2. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.09.019
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2010). *Panorama [online]*. Retrieved from <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/panorama>
- James, DR, Golovsky, G, Thornton, JM, Goodchild, L, Havlicek, M, Martin, P,... Morj, SM. (2017). Clinical management of *Brucella suis* infection in dogs and implications for public health. *Australian Veterinary Journal*, 95(1-2), 19-25. doi: 10.1111/avj.12550
- Kauffman, LK & Petersen, CA. (2019). Canine Brucellosis: Old Foe and Reemerging Scourge. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 49, 763-9. doi: 10.1016/j.cvsm.2019.02.013
- Keid, LB. (2001). Diagnóstico da brucelose canina por *Brucella canis*. Correlação entre exames clínicos e laboratoriais: imunodifusão em gel de ágar, imunodifusão em gel de ágar com emprego do 2-mercaptoetanol, cultivo e reação em cadeia pela polimerase. Dissertação de mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. Retrieved from <https://repositorio.usp.br/item/001231284>
- Keid, LB, Soares, RM, Vasconcellos, SA, Chiebao, DP, Salgado, VR, Megid, J & Richtzenhain, LJ. (2007). A polymerase chain reaction for detection of *Brucella canis* in vaginal swabs of naturally infected bitches. *Theriogenology*, 68(9), 1260-70. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.08.021
- Keid, LB, Soares, RM, Vasconcellos, SA, Megid, J, Salgado, VR & Richtzenhain, LJ. (2009). Comparison of agar gel immunodiffusion test, rapid slide agglutination test, microbiological culture and PCR for the diagnosis of canine brucellosis. *Research in Veterinary Science*, 86, 22-26, 2009. doi: 10.1016/j.rvsc.2008.05.012.

- Kosoy, M. & Goodrich, I. (2018). Comparative Ecology of *Bartonella* and *Brucella* Infections in Wild Carnivores. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, 1-32. doi: 10.3389/fvets.2018.00322
- Megid, J, Salgado, VR, Keid, LB, Siqueira, AK, Meirelles, CE & Moretti DM. (2007). Infecção em cão por *Brucella abortus*: relato de caso. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59(6), 1583-5. doi: 10.1590/S0102-09352007000600036
- Noordhuizen, JPTM, Frankena, K, Van Der Hoofd, CM & Graaf, EAM. (1997). *Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology*. Wageningen: Wageningen Press.
- Porto, KC, Cabral, JJP & Tabarelli, M. (2004). Brejos de altitude em Pernambuco e Paraíba: história natural, ecologia e conservação [online]. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. Retrieved from <http://www.terrabrasil.org.br/ecotecadigital/pdf/brejos-de-altitude-em-pernambuco-e-paraiba.pdf>
- Roushan, MRH, Ebrahimpour, S & Moulana, Z. (2016). Different Clinical Presentations of Brucellosis. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 9(4):e33765. doi: 10.5812/jjm.33765
- Rodrigues, RTGA, Bezerra, JAB, Medeiros, VB & Filgueira, KD. (2017). Brucelose canina: uma revisão prática para o clínico veterinário de pequenos animais. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 11(2), 216-32. doi: 10.5935/1981-2965.20170023
- Saddique, A, Ali, S, Akhter, S, Khan, I, Neubauer, H, Melzer, F,... El-Adawy, H. (2019). Acute Febrile Illness Caused by *Brucella abortus* Infection in Humans in Pakistan. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16, 4071. doi: 10.3390/ijerph16214071
- Sadhu, DB, Panchasara, HH, Chauhan, HC, Sutariya, DR, Parmar, VL & Prajapati, HB. (2015). Seroprevalence and comparison of different serological tests for brucellosis detection in small ruminants. *Veterinary World*, 8(5), 561-6. doi: 10.14202/vetworld.2015.561-566
- Soares, CPOC, Teles, JAA, Santos, AF, Silva, SOF, Cruz, MVRA & Silva-Júnior, FF. (2015). Prevalence of *Brucella* spp in humans. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 23(5):919-26. doi: 10.1590/0104-1169.0350.2632
- Talukder, BC, Samad, MA & Rahman, AKMA. (2011). Comparative evaluation of commercial serodiagnostic tests for the seroprevalence study of brucellosis in stray dogs in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*, 9(1), 79-83. doi: 10.3329/bjvm.v9i1.11217
- Thrusfield, M. (2007). *Veterinary Epidemiology*. Oxford Wiley Blackwell.
- Vasconcelos, RTJ, Alves, CJ, Clementino, IJ, Araújo Neto, JO, Alves, FAL, Batista, CSA,... Azevedo, S.S. (2008). Soroprevalência e fatores de risco associados à infecção por *Brucella canis* em cães

da cidade de Campina Grande, estado da Paraíba. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 9(3), 436-42.

Volkweis, FS, Cavalcanti, LCG, Blume, H, Santos Jr, HL, Lazzari, AM & Mulinari, F. (2018). Detection of *Brucella canis* in blood, urine and seminal fluid of a naturally infected dog by PCR. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, 40, 1-7. doi: 10.29374/2527-2179.bjvm002718.

Xavier, MN, Costa, EA, Paixão, TA & Santos, RL. (2009). The genus *Brucella* and clinical manifestations of brucellosis. *Ciência Rural*, 39(7), 2252-60. doi: 10.1590/S0103-84782009005000167

Zar, JH. (1999). *Biostatistical Analysis*. 4^a ed. New Jersey: Prentice-Hall.

Zheludkov, MM & Tsirelson, LE. (2010). Reservoirs of *Brucella* Infection in Nature. *Biology Bulletin*, 37(7), 709–15. doi: 10.1134/S106235901007006X

Figura

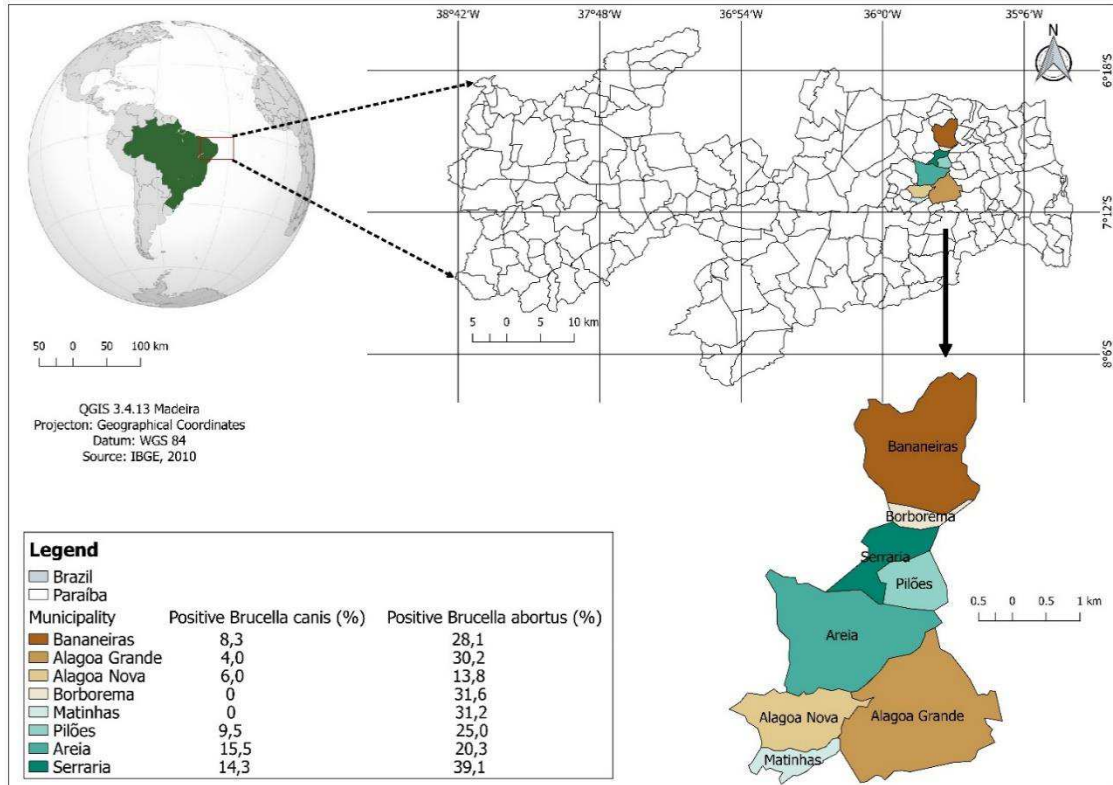


Figura 1. Representação geográfica dos municípios da microrregião Brejo paraibano, Brasil que tiveram seus cães amostrados entre maio e outubro de 2017 e as respectivas frequências de cães soropositivos para *Brucella canis* e *Brucella abortus*.

Tabelas

Tabela 1.

Número de habitantes, número mínimo de cães a serem amostrados, cães amostrados, animais positivos para *Brucella canis* e *Brucella abortus* em cada município da microrregião do Brejo Paraibano.

| Município | Habitantes* | Nº mínimo de cães a serem amostrados | <i>B. canis</i> | | <i>B. abortus</i> | |
|---------------|-------------|--------------------------------------|-----------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| | | | Cães amostrados | Cães positivos (%) | Cães amostrados | Cães positivos (%) |
| Alagoa Grande | 28,479 | 94 | 100 | 4 (4.0) | 96 | 29 (30.2) |
| Areia | 23,829 | 78 | 71 | 11 (15.5) | 59 | 12 (20.3) |
| Bananeiras | 21,851 | 72 | 72 | 6 (8.3) | 64 | 18 (28.1) |
| Alagoa Nova | 19,681 | 65 | 67 | 4 (6.0) | 65 | 9 (13.8) |
| Serraria | 6,238 | 21 | 21 | 3 (14.3) | 23 | 9 (39.1) |
| Pilões | 6,978 | 23 | 21 | 2 (9.5) | 24 | 6 (25.0) |
| Borborema | 5,111 | 17 | 17 | 0 (0) | 19 | 6 (31.6) |
| Matinhas | 4,321 | 14 | 17 | 0 (0) | 16 | 5 (31.2) |
| Total | 116,488 | 384 | 386 | 30 | 366 | 94 |

*Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [IBGE] (2010)

Tabela 2.

Análise univariável dos fatores associados ($P < 0,20$) à soroprevalência de *Brucella canis* e *Brucella abortus* em cães da microrregião do Brejo Paraibano.

| Variável | Categorias | Nº total de cães | Cães positivos (%) | P |
|--|------------------------------|------------------|--------------------|-------|
| <i>Brucella canis</i> | | | | |
| Criação | Domiciliado sem acesso à rua | 58 | 10 (17.2) | 0.006 |
| | Domiciliado com acesso à rua | 252 | 18 (7.1) | |
| | Solto | 76 | 2 (2.6) | |
| Idade | Até um ano | 83 | 3 (3.6) | 0.042 |
| | 2 – 10 anos | 290 | 24 (8.3) | |
| | Acima de 10 anos | 13 | 3 (23.1) | |
| Realiza banhos no animal? | Sim | 335 | 29 (8.7) | 0.096 |
| | Não | 51 | 1,0 (2.0) | |
| Infestação por pulgas severa | Não | 372 | 27 (7.3) | 0.052 |
| | Sim | 14 | 3 (21.4) | |
| <i>Brucella abortus</i> | | | | |
| Raça | Sem raça definida | 304 | 73 (24.0) | 0.105 |
| | Com raça definida | 62 | 21 (33.9) | |
| Idade | Até um ano | 80 | 18 (22.5) | 0.194 |
| | 2 – 10 anos | 273 | 70 (25.6) | |
| | Acima de 10 anos | 13 | 6 (46.2) | |
| Frequência da troca da água da vasilha do animal | Diariamente | 282 | 67 (23.8) | 0.123 |
| | Não troca todos os dias | 84 | 27 (32.1) | |

Tabela 3.

Fatores associados à soroprevalência para *B. canis* e *B. abortus* em cães da microrregião Brejo Paraibano, determinados pela análise de regressão de Poisson robusta.

| Variável | Coefficiente (β) | Erro Padrão | Wald | Razão de prevalência | IC 95% | P |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------|-------|----------------------|-------------|-------|
| <i>B. canis</i>* | | | | | | |
| Idade > 10 anos | 1.853 | 0.820 | 5.105 | 6.38 | 1.28; 31.86 | 0.024 |
| Cães criados presos no quintal | 1.649 | 0.783 | 4.440 | 5.20 | 1.12; 24.12 | 0.035 |
| <i>B. abortus</i>** | | | | | | |
| Não trocar a água dos animais todos | 0.394 | 0.185 | 4.526 | 1.48 | 1.03; 2.13 | 0.033 |

Ajuste do modelo: *qui-quadrado de Pearson = 333.23; graus de liberdade = 377; valor/df =0.884; ** qui-quadrado de Pearson = 274.48; graus de liberdade = 359; valor/df =0.765

CONCLUSÃO GERAL

Conclui-se que a soroprevalência da leishmaniose visceral, leptospirose e brucelose na população canina da microrregião Brejo Paraibano é alta e alertam para que haja o desenvolvimento de medidas de controle e prevenção na espécie, tendo em vista, o risco de infecção para outras espécies animais e humanos.

A análise de risco sugere maiores cuidados no manejo dos animais e alerta para que haja o desenvolvimento de ações socioeducativas na população sobre a prevenção dessas doenças.

ANEXOS

Aprovação do Comitê de Ética



Universidade Federal de Campina Grande
 Centro de Saúde e Tecnologia Rural
 Comissão de Ética em Pesquisa
 Av. Sta Cecília, s/n, Bairro Jatobá, Rodovia Patos,
 CEP: 58700-970, Cx postal 64, Tel. (83) 3511-3045



AO: SERGIO SANTOS AZEVEDO (Coordenador)

Protocolo CEP nº025-2017

CERTIDÃO

Certificamos a V.Sa. que seu projeto intitulado "Prevalência de zoonoses em cães da Microrregião do Brejo Paraibano" teve parecer consubstanciado orientado pelo regulamento interno deste comitê e foi Aprovado, em caráter de **Ad referendum**, estando à luz das normas e regulamentos vigentes no país atendidas as especificações para a pesquisa científica.

Patos, 29 de Setembro de 2017.

Maria de Fátima de Araujo Lucena
 Coordenadora do CEP