

Scientific Electronic Archives

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 12 (2)

April 2019

Article link

<http://www.seasinop.com.br/revista/index.php?journal=SEA&page=article&op=view&path%5B%5D=672&path%5B%5D=pdf>

Included in DOAJ, AGRIS, Latindex, Journal TOCs, CORE, Discursio Open Science, Science Gate, GFAR, CIARDRING, Academic Journals Database and NTHRYS Technologies, Portal de Periódicos CAPES.



Soroprevalência de anticorpos anti-*Brucella canis* em cães do município de Sinop, MT, Brasil

Seroprevalence of *Brucella canis* antibodies in dogs in the city of Sinop, MT, Brazil

L. G. S. Silva, S. N. G. Socoloski, K. V. Bassetto, B. G. Castro

Federal University of Mato Grosso, Health Sciences Institute

Author for correspondence: castrobg@ufmt.br

Resumo: Foi investigada a soroprevalência de brucelose canina por *Brucella canis* em cães da cidade de Sinop, Mato Grosso, Brasil, e realizado um estudo de possíveis fatores de riscos associados à soropositividade. Foram examinadas 124 amostras de soro sanguíneo de cães colhidas durante a campanha de vacinação antirrábica animal. Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Brucella canis* foi empregada a prova de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), utilizando antígeno de lipopolissacarídeos e proteínas de *Brucella ovis*, amostra Reo 198. A soropositividade encontrada foi de 11,29%. O perfil epidemiológico da doença mostrou que o agente infecta principalmente cães, mestiços de porte pequeno ou médio, inteiros, com idade superior a um ano, havendo associação entre soropositividade para *Brucella canis* e estes fatores.

Palavras-chave: Brucelose animal, *Brucella canis*, diagnóstico, cães

Abstract: The prevalence of brucellosis due to *Brucella canis* was investigated in dogs from Sinop, Mato Grosso State, Brazil, and the risk factors for seropositivity were also analyzed. For this purposes, 124 dogs' blood samples were collected during the rabies vaccination campaign. The agar gel immunodiffusion test (AGID), by *Brucella ovis* lipopolysaccharides and proteins antigens, sample Reo 198, was used for serological diagnosis. The seroprevalence was 11.29%. The epidemiological evidences showed that canine brucellosis due to *Brucella canis* in this area presented association with the variables age, breed, body size and reproductive capacity. There was association between *Brucella canis* seropositivity and these aspects.

Keywords: Animal brucellosis, *Brucella canis*, diagnosis, dogs.

Introdução

A *Brucella canis* é um agente bacteriano Gram Negativo, intracelular facultativo isolado pela primeira vez com agente abortivo em um canil de Beagles nos Estados Unidos da América por Carmichael (1966), como descrito por Hofer et al. (2012). De acordo com Lucero et al. (2010), a enfermidade apresenta distribuição mundial sendo de importância em saúde animal, como também em saúde pública em decorrência do potencial zoonótico do agente etiológico.

Os principais sintomas da enfermidade em cães são o aborto no final da gestação nas fêmeas, além de prostatite e epididimite em machos. Sendo também descritos casos de infertilidade, linfadenites, uveítes e espondilocistite (Hofer et al.

2012). De acordo com Hollet (2006) os animais afetados geralmente se apresentam saudáveis, sem nenhum sintoma clínico do processo infeccioso. No entanto o autor relata que uma bacteremia persistente pode ser observada em cães não tratados por vários anos.

No Brasil, a enfermidade foi descrita inicialmente na década de 1970 em Minas Gerais em um caso clínico de abortamento em uma cadela (Godoy et al., 1976). Diversos estudos epidemiológicos da enfermidade já foram realizados em diversas Unidades Federativas, como verificado na literatura. Vasconcelos et al. (2008) verificaram soroprevalência de 2,85% dos cães avaliados em Campina Grande, Paraíba. Em estudo por Bezerra et al., (2012) realizado com cães de diferentes

localidades de Ilhéus e Itabuna, os autores verificaram frequência média de 3,4%, sendo 3,2% em Ilhéus e 4,3% em Itabuna.

Em outras regiões também foram verificadas taxas de prevalência similares ao reportado em Campina Grande e Ilhéus-Itabuna. Aguiar et al. (2005) verificou uma frequência de 3,6% em cães de Rondônia, Lira et al. (2006) verificou taxa de 6,66% em Recife, bem como Cavalcanti et al. (2006) que observou uma prevalência de 5,88% em Salvador. Por outro lado, também foram verificadas altas taxas de animais apresentando anticorpos anti-*Brucella canis* nos estudos de Maia et al. (1999) e Keid et al. (2004), onde foram verificadas taxas de 25,7% no Rio de Janeiro e 33,91% em São Paulo, respectivamente. Com estes resultados é possível afirmar que a enfermidade está presente de forma relevante em praticamente todo o território nacional.

O objetivo deste estudo foi de realizar o primeiro levantamento soro-epidemiológico da *Brucella canis* em cães do município de Sinop (MT), bem como avaliar os fatores de risco à ocorrência da enfermidade nos referidos animais de acordo com as características da região estudada.

Métodos

Diante desta população estimada de cães do município em 22 mil animais, realizou-se cálculo amostral tomando-se os seguintes parâmetros: (a) prevalência esperada de 10%; (b) nível de confiança de 95%; e (c) erro absoluto de 5% utilizando o programa Epiinfo versão 7.0 (Thrusfield, 2004), totalizando 124 amostras.

Durante a campanha de vacinação antirrábica de 2013 realizada no município de Sinop foram coletadas as 124 amostras de sangue de cães, machos e fêmeas, sem distinção de raça e idade, sem critério de aleatoriedade. O sangue foi colhido por venopunção da veia cefálica utilizando-se tubos de coleta a vácuo estéreis com ativador de coágulo. Após a coleta, os tubos foram devidamente identificados, e, após a retração do coágulo, foram colocados em caixas de isopor com gelo e enviados para o Laboratório de Doenças Infecciosas da Universidade Federal de Mato Grosso – *Campus* de Sinop, onde foram feitos o dessoramento por centrifugação a 3.000 rpm por 10 minutos, armazenado em microtubo estéril de 1,5 mL, identificado e conservado a -20°C até o momento do processamento, de acordo com o preconizado por Clementino et al. (2007).

No momento da coleta para coleta de sangue dos animais foi aplicado, também, um questionário epidemiológico para obter informações sobre as características dos animais, manejo sanitário, manejo reprodutivo, acesso a outros locais, dentre outros aspectos. Os dados obtidos com os questionários foram utilizados no estudo de fatores de risco.

A imunodifusão em gel de ágar (IDGA) foi a técnica utilizada como prova de triagem e realizada

no Laboratório de Doenças Infecciosas no Hospital Veterinário da UFMT Sinop. Foram utilizados kits produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), sendo a técnica realizada de acordo com as instruções do fabricante, utilizando-se antígeno de lipopolissacarídeos e proteínas de *B. ovis*, amostra Reo 198.

Foi realizado uma avaliação da prevalência de animais soropositivos através da verificação de anticorpos anti-*B. ovis* nos soros coletados. A caracterização da significância entre as diferenças observadas nas frequências de animais reativos segundo o sexo e a procedência, bem como aspectos relacionados à fatores de risco foi determinada através do Teste de Qui-Quadrado (Zar, 1999), pelo programa Biostat 5.0. O nível de significância adotado foi de 5% (Azevedo et al., 2004).

Este estudo foi conduzido sob autorização do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso, sob número 23108.709127/2015-80.

Resultados e discussão

Foram coletadas 124 amostras de sangue de cães no município de Sinop, MT durante a campanha de vacinação antirrábica, sendo 53,22% machos, 46,78% fêmeas, com maior frequência de animais sem raça definida (70,96%), com idade superior a um ano (84,67%), de porte pequeno ou médio (60,48%), inteiros (95,96%) e com acesso à rua (75,0%), de acordo com seus proprietários.

Após a realização da técnica de diagnóstico sorológico, foi verificada uma prevalência total de 11,29%, onde 14 dos 124 animais avaliados apresentaram soropositividade na técnica diagnóstica. Em outros levantamentos realizados no Brasil, a frequência observada foi semelhante a verificada no presente estudo, como reportado por Almeida et al. (2004) que constataram, em Alfenas (MG), soropositividade de 14,2% dos animais. Com resultado semelhante, Moraes et al. (2002) avaliando 119 animais, diagnosticou 11 (9,2%) deles sororreagente à *B. canis*.

Por outro lado, outros estudos obtiveram resultados diferentes com o verificado no município de Sinop, tendo apresentado prevalências abaixo, como também, acima do observado no presente levantamento. Estudos de Maia et al. (1999) realizado no município do Rio de Janeiro e Keid et al. (2004), avaliando cães da cidade de São Paulo verificaram prevalências de 25,7% e 33,91% entre os 171 animais avaliados em cada estudo. Em estudo realizado por Vargas et al. (1996) conduzido em um canil, foi verificado que oito dos 11 animais apresentavam anticorpos anti-*B. canis*. Estes autores relataram a relevância do agente etiológico da brucelose canina na disseminação do agente através da monta natural, sem o controle sanitário devido.

Outros autores também verificaram taxas de prevalências menores, tais como Azevedo et al.

(2003) em Santana de Parnaíba (SP) com 2,2% dos animais positivos, Dos Reis et al. (2008) com 0,8% dentre os 500 cães avaliados em São João da Boa Vista (SP), Aguiar et al. (2005) que diagnosticaram soropositividade em 3,6% dos 304 cães analisados em municípios do estado de Rondônia e Bezerra et al. (2012) que observaram 22 dos 638 cães analisados (3,4%) era positivos à brucelose canina em Ilhéus e Itabuna (BA).

risco associados à infecção por *B. canis* pode ser verificada na (Tabela 1).

Como verificado em diversos estudos, a taxa de prevalência apresentará variações em relação à população avaliada, apresentando maiores taxas quando avaliadas populações que apresentem maior risco à infecção.

Os dados referentes às taxas de prevalência, bem como a análise de fatores de

Tabela 1. Fatores de risco associados entre cães sororreagentes à brucelose canina e as características estudadas no município de Sinop, Mato Grosso, Brasil.

Fatores de risco	Positivo (%)	Negativo	Valor de <i>P</i>	Chances de ocorrer (OR)	Intervalo de confiança 95%
Sexo					
Macho	9 (7,25)	57	0,3823	1,6737	0,5771-5,3147
Fêmea	5 (4,03)	53			
Faixa etária					
> 01 ano	14 (13,33)	91	0,2122	6,183	0,3535-108,06
≤ 01 ano	0	19			
Raça					
Sem raça definida	11 (8,87)	77	0,5086	1,5714	0,4114-6,0024
Raça definida	3 (2,41)	33			
Porte					
Pequeno ou Médio	10 (13,33)	65	0,3783	1,7308	0,5108-5,8640
Grande	4 (8,16)	45			
Inteiros					
Sim	14 (11,29)	105	0,7834	1,5118	0,0794-28,7901
Não	0 (0,00)	5			
Acesso à rua					
Sim	12 (9,68)	72	0,3355	2,1481	0,4533-10,1808
Não	2 (1,61)	29			
Problemas Reprodutivos					
Não	12 (9,67)	99	0,624	0,6667	0,1317-3,3735
Sim	2 (1,61)	11			

Quando avaliada a distribuição da prevalência entre os gêneros, dos 124 animais soropositivos, nove (7,25%) eram machos, enquanto os outros cinco (4,03%) eram do sexo feminino. Comprando os gêneros, foi verificada uma frequência de 64,28% de machos para 35,71% de fêmeas, não sendo verificada diferença significativa entre os grupos. Resultado semelhante foi reportado por Castro (2010) que verificou uma maior prevalência em machos utilizando banco de soro de um laboratório veterinário do Rio de Janeiro. Por outro lado, diversos outros estudos reportaram uma maior incidência em fêmeas, como Azevedo et al. (2003), Vasconcelos et al. (2008) e Bezerra et al. (2012). De acordo com Moraes et al. (2002) e Alves et al. (2003) o fator sexual não é um elemento de predisposição à infecção por *B. canis*.

Em relação à idade dos animais, os mesmos foram divididos em abaixo de um ano e acima de um ano, como recomendado por Bezerra et al. (2012). De acordo com os resultados obtidos, foi verificada diferença significativa entre os grupos,

onde apenas animais acima de um ano de idade apresentavam anticorpos anti-*B. canis*, sendo 14 dos 105 (13,33%) cães desta faixa etária. Este resultado foi semelhante com os relatados por Azevedo et al. (2003), Dornelles et al. (2011), Amarante e Silva et al. (2012) que verificaram uma prevalência maior em animais acima de 12 meses. No entanto, poucos levantamentos apresentaram resultados diferentes, tais como Vasconcelos et al. (2008) e Bezerra et al. (2012) que observaram uma prevalência maior em animais de até um ano. Segundo Carmichel e Greene (1998), a maior prevalência em cães acima de um ano se deve à maturidade sexual da espécie, havendo, assim, uma maior exposição a animais soropositivos, devido à promiscuidade sexual, principalmente em animais com acesso à rua.

Em relação à ocorrência da enfermidade em relação ao perfil racial dos animais, foi verificado que a maior prevalência foi 8,87% em cães sem raça definida (SRD) e 2,42% em aqueles declarados por seus proprietários com sendo de raça, sendo

verificada diferença significativa entre os dois quesitos. Apesar disso, este resultado não confirma relação entre a doença e questões raciais, visto que a amostragem foi realizada em cima de animais que frequentavam campanha pública de vacinação antirrábica em bairros carentes, sendo mais frequente a presença de animais SRD (70,96%). No entanto, animais SRD podem apresentar maior prevalência da enfermidade em decorrência da menor preocupação com sua criação e manejo, estando os mesmos mais expostos ao agente. Estudo realizado por Moore; Gupta (1970) relatou que cães Beagles eram mais acometidos pela enfermidade. Fato não verificado em nenhum outro estudo até o momento (Azevedo et al., 2003; Bezerra et al., 2012).

No que tange à soropositividade em relação o porte dos animais avaliados, foi verificado que animais de tamanho pequeno ou médio apresentavam uma maior prevalência (13,3%) quando comparado aos de porte grande (8,16%). Alves et al. (2003) verificaram resultado semelhante em Patos (PB). De acordo com os autores a maior prevalência encontrada foi em animais de porte médio. Este resultado possivelmente se deve aos proprietários de animais de pequeno e médio porte permitir um maior acesso destes animais à rua, visto que cães de raças grandes e gigantes apresentam um risco maior à população quando errantes, sendo, desta forma, mantidos presos em suas residências.

Também foi avaliada a distribuição da prevalência em relação ao potencial reprodutivo, ou seja, se os animais eram inteiros ou castrados. De acordo com o resultado obtido, apenas cães inteiros (14/119) foram sororreagentes. Este resultado possivelmente se deve a uma maior exposição dos animais não esterilizados ao agente, visto que a referida enfermidade possui a via reprodutiva como uma das principais formas de transmissão. Este resultado contraria o observado por Dornelles et al. (2011) que verificaram uma maior prevalência em cães castrados, apesar de não haver diferença estatística entre os grupos avaliados.

Em relação à prevalência da enfermidade entre animais domiciliados e semidomiciliados, foi verificada, em Sinop, diferença significativa entre os grupos, visto que cães que acessavam a rua apresentaram prevalência maior do que aqueles que tinham residência fixa sem acesso livre à ambiente externo, com prevalência de 12,9% e 6,45%, respectivamente. Dados semelhantes foram verificados nos estudos de Dornelles et al. (2011) e Bezerra et al. (2012), corroborando que animais que se encontram dentro dos domicílios e frequentam áreas urbanas têm fator de associação à infecção.

Quando avaliada a distribuição da prevalência da brucelose canina em animais que já apresentaram sintomas reprodutivos, de acordo com seus proprietários, foi detectado maior soropositividade em animais que nunca apresentaram sinais clínicos de problemas

reprodutivos (10,81%), fato também verificado no estudo de Azevedo et al. (2003). Este resultado pode ser explicado pela característica subclínica da enfermidade que apresenta longo período de incubação, bem como da dependência do proprietário na observação dos sintomas como abortamento que podem ocorrer no início da gestação, sem a percepção do dono, como relatado por Mascoll et al. (2002).

No que diz respeito à análise dos fatores de risco associados à brucelose canina em Sinop, foi verificado no presente estudo que os fatores idade, porte do cão, aspectos raciais e capacidade reprodutiva apresentaram os maiores valores de *Odds Ratio* sem diferença significativa quando comparado dentro dos quesitos. Desta forma, animais inteiros, acima de um ano de porte pequeno ou médio e sem raça definida apresentam uma chance maior de apresentar a doença em Sinop, no entanto sem ser uma situação de risco. Este fato possivelmente se deve à maior exposição destes ao agente infeccioso.

Conclusão

Sendo assim, constata-se a presença do agente *Brucella canis* no município de Sinop e a adoção de medidas sanitárias, de controle e prevenção são importantes para evitar a propagação da brucelose canina entre os cães, como também prevenir a contaminação humana. Desta forma políticas públicas devem ser instaladas para o diagnóstico rotineiro desta enfermidade a fim de reduzir os riscos à Saúde Pública.

Referências

- Aguiar D.M., Cavalcante G.C., Vasconcellos S.A., Megid J., Salgado V.R., Cruz T.F., Labruna M.B., Pinter A., Silva J.C.R., Moraes Z.M., Camargo L.M. & Gennari S. M., Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella abortus* e anti-*Brucella canis* em cães rurais e urbanos do Município de Monte Negro, Rondônia, Brasil. *Ciência Rural*, 35:1216-1219, 2005.
- Almeida A.C., Santorelli A., Bruzadelli R.M.Z. & Oliveira M.M.N.F. Soroepidemiologia da brucelose canina causada por *Brucella canis* e *Brucella abortus* na cidade de Alfenas, MG. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 56:275-276, 2004.
- Alves C. J., Alves F. A. L., Gomes, A. A. B., Azevedo S. S., Andrade J. S. L. & Santos, F. A. Aspectos epidemiológicos de *Brucella canis* em Patos, Paraíba, Brasil. *Ciência Animal*, 13:45-49, 2003.
- Amarante E Silva C. P., Almeida A. B. P., Godoy I., Araújo A. C. P., Aguiar D. M., Sousa, V. R. F., Nakazako L. & Dutra, V. Detecção molecular da *Brucella canis* em cães do município de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. *Ciência Rural*, 42(6):1051-1056, 2012.

- Azevedo S.S., Vasconcellos S.A., Alves C.J., Keid L.B., Grasso L.M.P.S., Mascoll R. & Pinheiro S.R. Inquérito sorológico e fatores de risco para a brucelose por *Brucella canis* em cães do município de Santana de Parnaíba, Estado de São Paulo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 23:156-160, 2003.
- Azevedo S.S., Alves C.J., Alves F.A.L., Clementino I.J., Batista C.S.A. & Azevedo A.S. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Agropecuária Técnica*, 25:45-50, 2004.
- Bezerra R.A., Mendonça C.E.D., Sicupira P.M.L., Munhoz A.D. & Ribeiro A.R.P., Carlos R.S.A. & Rêgo G. Prevalência de anticorpos contra *Brucella canis* em cães na região de Ilhéus-Itabuna, estado da Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34:27-30, 2012.
- Carmichael LE. Abortions in 200 Beagles. *JAVMA*, 149:1126, 1966.
- Carmichael L. E. & Greene C. E. Canine brucellosis. In: Greene C. E. (ed.). *Infectious diseases of the dog and cat*. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p. 248-257.
- Cavalcanti L.A., Dasso M. G., Oliveira F. C. S., Viegas S. A. R. A., Almeida M. G. A. R., Anunciação A. V. M., Alcantara A. C., Bittencourt D. V. V. & Oliveira E. M. D. Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella canis* em cães provenientes da região metropolitana de Salvador. *Revista Brasileira de Saúde Produção Animal*, 7:176-180, 2006.
- Clementino I.J., Alves C.J., Azevedo S.S., Paulin L.M. & Medeiros K.A. Inquérito soro-epidemiológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslançados do semiárido da Paraíba. *Pesquisa Brasileira Veterinária*, 27:137-143, 2007.
- Dornelles E.M.S., Santos H., Minharro S., Nascimento-Rocha J.M., Mathias L.A., Dasso M.G., Tiensoi C.D., Heinneman M.B. & Lange A.P. Anticorpos anti-*Brucella canis* e anti-*Brucella abortus* em cães de Araguaína, Tocantins. *Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science*, 48:167-171, 2011.
- Dos Reis C. B. M., Hoffmann R. C., Santos R. S., Turri R. J. G. & Oriani M. R. G. Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella canis* e anti-*Brucella abortus* em cães errantes da cidade de São João da Boa Vista, Estado de São Paulo, Brasil (2002- 2003). *Brazilian journal. Veterinary Reserch Animal Science*. 45:32-34, 2008.
- Godoy A.M., Peres J.N. & Barg L. Isolamento de *Brucella canis* em Minas Gerais, Brasil. *Arquivos da Escola Superior de Veterinária do Estado de Minas Gerais*, 29:35-42, 1976.
- Hofer E., Bag Zn, Bagó Z., Fernández S.R.F., Melzer F., Herbert Tomaso H., Goñi I.L., Fasching G. & Schmoll, F. First detection of *Brucella canis* infections in a breeding kennel in Austria. *New Microbiology*, 35:507-10, 2012
- Hollett R. B. Canine brucellosis. *Outbreaks and compliance*, 66:575-587, 2006.
- Keid L.B., Soares R.M., Morais Z.M., Richtzenhain,L.J. & Vasconcellos S.A. *Brucella* spp. Isolation from commercial 32 breeding kennels in São Paulo State, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35:161-166, 2004 .
- Lira N.C., Pereira M.F., Lima Jr. A.D., Albuquerque B.C.N.C., Mota R.A., Costa L.S.P., Alves L.C.A. & Filho G. Achados anatomopatológicos, histopatológicos e o exame sorológico para brucelose canina em cães errantes da região metropolitana do Recife-PE. *Biológico*, 68:136-139, 2006.
- Lucero N.E., Corazza R., Almuzara M.N., Reynes E., Escobar G.I., Boeri E. & Ayala S.M. Human *Brucella canis* outbreak linked to infection in dogs. *Epidemiology and Infection*, 138: 280–285, 2010.
- Maia G. R., Rossi C. R. S., Abbadia F., Vieira D. K. & Moraes I. A. Prevalência da brucelose canina nas cidades do Rio de Janeiro e Niterói-RJ. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 23:425-427, 1999.
- Mascoll R., Pinheiro S.R., Vasconcelos A.S., Ferreira F., Morais Z.M. & Pinto C.O. Inquérito Sorológico para Leptospirose em Cães do Município de Santana de Parnaíba, São Paulo, Utilizando a Campanha de Vacinação Anti-Rábica do Ano de 1999. *Arquivos do Instituto Biológico*, 69:25-32, 2002.
- Moore J.A. & Gupta B.N. Epizootiology, diagnosis, and control of *Brucella canis*. *JAVMA* 156(12):1737-1742, 1970..
- Moraes C. C. G., Megid J. , Souza L. C. & Crocci A. J. Prevalência da brucelose canina na microrregião da serra de Botucatu, São Paulo, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, 69:7-10, 2002.
- Thrusfield M. *Epidemiologia veterinária*. São Paulo: Roca, 2004. 556 p.
- Vargas A.C., Lazzari A., Dutra V. & Poester F. Brucelose canina: relato de caso. *Ciência Rural*, 26:305-308,1996.
- Vasconcelos R.T.J., Alves C.J., Clementino I.J., Araújo Neto J.O., Alves F.A.L., Batista C.S.A., Bernardi F., Soto F.R.M., Oliveira R.M. & Azevedo

S.S. Soroprevalência e fatores de risco associados à infecção por *Brucella canis* em cães da cidade de Campina Grande, estado da Paraíba. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 9:436-442, 2008.

Zar J.H. *Biostatistical analysis*. 4.ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999. 663p.