

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

TAMILLY CHRISTINA DA SILVA LEMOS

**Surto de brucelose humana no estado do paraná e revisão histórica dos
dados epidemiológicos de 2009 a 2018.**

CURITIBA

2019

TAMILLY CHRISTINA DA SILVA LEMOS

Surto de brucelose humana no estado do Paraná e revisão histórica dos dados epidemiológicos de 2009 até 2018.

Monografia apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Escola de Medicina, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Profº Drº Felipe F. Tuon

CURITIBA

2019

Tamilly Christina da Silva Lemos

Surto de brucelose humana no estado do Paraná e revisão histórica dos dados epidemiológicos de 2009 até 2018.

Monografia apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Escola de Medicina, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Drº Felipe F. Tuon

COMISSÃO EXAMINADORA

Cristina Pellegrino Baena
Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Keite da Silva Nogueira
Universidade Federal do Paraná (HC – UFPR)

Curitiba, 02 de outubro de 2019

Aos meus avós, Nilton e Ivanilde, que nunca me deixaram esquecer de minha essência. Em especial ao meu avô, meu maior exemplo de ser humano, simplicidade, paciência e humildade, sou grata a Deus pela oportunidade de aprender com vocês e pelo apoio incondicional que vocês me deram em todas as etapas da minha vida

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela dádiva da vida e por me permitir realizar tantos sonhos nesta existência. Obrigado por me permitir errar, aprender e crescer, por me permitir ter o livre arbítrio de escolher querer sempre o melhor e o bem no desenvolvimento de todos os projetos e realizações até aqui.

À Fundação Capes pela disponibilização da taxa e incentivo à pesquisa

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná, por me aceitar como aluna e a todos os colaboradores que me auxiliaram durante o andamento deste projeto. Ao Prof. Drº Felipe, pela orientação, dedicação e disponibilidade, por todos os ensinamentos, incentivos e esforços para realização deste projeto.

Ao Laboratório Central do Estado do Paraná, Lacen-PR, em especial a Elizabeth El Hajjar Droppa e Flávia Shibata, pela colaboração prestada durante a realização deste projeto.

A equipe de Trabalho de Brucelose Humana do Estado do Paraná, em especial a Juliana Clélia Cequinel e Tânia Portella Costa, por toda colaboração e auxílio prestados durante a realização desta dissertação de mestrado.

Gratidão à Farmacêutica, Juliette de Moraes Cieslinski, pelas correções, incentivo e discussões. Por me fazer acreditar cada vez mais que a disseminação do conhecimento é baseada nas sementes que plantamos e dividimos ao longo dessa jornada incrível de pesquisa.

Ao meu marido, Alberto Dias Lemos, pelas correções, por me ouvir incansavelmente e sempre estar ao meu lado me dando todo suporte necessário para que eu pudesse realizar esta dissertação.

Aos meus familiares e amigos pelo incentivo e apoio, para que os meus sonhos pudessem se realizar. A vocês minha eterna gratidão e amor.

“A menos que modifiquemos à nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”. (Albert Einstein)

RESUMO

Caracterizada como uma zoonose de etiologia bacteriana, a Brucelose Humana (BH) é causada por bactérias do gênero *Brucella* spp. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a verdadeira incidência pode ser cinco vezes maior do que a oficialmente relatada, devido a subnotificação e subdiagnóstico, justificada pela falta de suspeita clínica e pelo desconhecimento epidemiológico da doença. No ano de 2014, no estado do Paraná, foi possível observar um aumento significativo na incidência dos casos de BH, passando de menos de 20 casos por trimestre, para mais de 100 casos por trimestre. Esse dado foi observado após um surto confirmado de 51 casos em um frigorífico na cidade de Paiçandu – PR. Após esse episódio, a Secretaria Estadual de Saúde e a vigilância epidemiológica do estado do Paraná, promoveram ações de fiscalização, para que a doença fosse contida e, a partir de 2015 a doença passou a ser de notificação compulsória no estado do Paraná. Além disso, um protocolo da doença foi desenvolvido para auxiliar no diagnóstico, tratamento e prevenção. Os dados epidemiológicos obtidos, proporcionaram uma análise histórica dos casos no período de 2009 a 2018. Dos dados laboratoriais analisados de 2009 a 2018, foram relatados 3.941 casos como suspeitos e 754 testes foram positivos. Desses, 673 positivos para o teste de Rosa Bengala, 33 para ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) IgG e 48 para ELISA IgM. Contudo, em paralelo a esses dados, uma análise laboratorial e epidemiológica dos casos após o surto, no período de janeiro de 2014 a janeiro de 2018, permitiu verificar que, dos 191 casos relatados como suspeitos, 90 (47,1%) foram confirmados. A maioria dos casos ocorreu em agricultores (60%), médicos veterinários (17,6%) e funcionários de frigorífico (14,7%). Esses dados possibilitaram a associação ao risco ocupacional, verificado em 84,7% dos casos confirmados. Além disso, a manipulação de animais e o consumo de leite não pasteurizados foram associados ao teste positivo de ELISA IgM. Os dados obtidos correlacionam a doença em sua maioria a casos ocupacionais e, além disso, é possível ressaltar a importância e efetividade verificadas na redução da incidência dos casos com a implantação do protocolo de BH no estado do Paraná.

Palavras – chave: Brucelose Humana, epidemiologia, surtos, doença ocupacional.

ABSTRACT

Characterized as a zoonosis of bacterial etiology, human brucellosis (BH) is caused by bacteria of the genus *Brucella* spp. According to the World Health Organization (WHO), the true incidence can be five times higher than the officially reported, due to underreporting and underdiagnosis, justified by the lack of clinical suspicion and the epidemiological ignorance of the disease. In the year 2014, in the state of Paraná, it was possible to observe a significant increase in the incidence of cases of BH, from less than 20 cases per quarter, for more than 100 cases per quarter. This data was observed after a confirmed outbreak of 51 cases in a refrigerator in the city of Paçandu – PR. After this episode, the state health secretariat and the epidemiological surveillance of the state of Paraná, promoted surveillance actions, so that the disease. Contained and, from 2015 onwards, the disease became compulsory notification in the state of Paraná. In addition, a protocol of the disease was developed to assist in diagnosis, treatment and prevention. The epidemiological data obtained, provided a historical analysis of the cases in the period from 2009 to 2018. Of the laboratory data analyzed from 2009 to 2018, 3,941 cases were reported as suspects and 754 tests were positive. Of these, 673 positive for the Rosa Bengal test, 33 for IgG ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) and 48 for IgM ELISA. However, in parallel to these data, a laboratory and epidemiological analysis of cases after the outbreak, from January 2014 to January 2018, showed that, of the 191 cases reported as suspected 90 (47.1%). Were confirmed. Most cases occurred in farmers (60%), veterinary physicians (17.6%) and refrigerator employees (14.7%). This data associated with occupational risk, verified in 84.7% of the confirmed cases. In addition, animal manipulation and milk consumption are not pasteurized were associated with the positive IgM ELISA test. The data obtained correlate the disease mostly to occupational cases and, moreover, it is possible to emphasize the importance and effectiveness verified in the reduction of case cases with the implementation of the BH protocol in the state of Paraná.

Key words: Human Brucellosis, epidemiology, outbreaks, occupational disease

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1* Mecanismo de Transmissão da Brucelose Humana, animal x humano
- Figure 2* Número de resultados de testes positivos e negativos para BH no estado do Paraná
- Figure 3* Mapa do estado do Paraná e incidência de BH por cidade (casos/100.000 habitantes/ano) de janeiro de 2014 a janeiro de 2018

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1* Descrição dos casos relatados de BH, relação de variáveis com o número de casos e percentuais válidos com base nos dados obtidos de janeiro de 2014 a dezembro de 2017
- Tabela 2* Correlação de dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais com teste ELISA Brucela IgG positivo em 76 doentes com suspeita de BH
- Tabela 3* Correlação de dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais com ELISA Brucela IgM positivo em 150 pacientes com suspeita de BH
- Tabela 4* Correlação clínica, laboratorial e epidemiológica de casos confirmados de BH.

LISTA DE ABREVIATURAS

BH	<i>Brucelose Humana</i>
OMS	<i>Organização Mundial da Saúde</i>
MAPA	<i>Ministério da Agricultura e Pecuária</i>
PNCEBT	<i>Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal</i>
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>
LPS	<i>Lipopolissacarídeo</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
ELISA	<i>Enzyme – Linked Immunosorbent Assay</i>
SNC	<i>Sistema Nervoso Central</i>
EPIs	<i>Equipamento de Proteção Individual Adequados</i>
SESA	<i>Secretária Estadual de Saúde</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo geral	4
2.2 Objetivos específicos.....	4
3. REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1 Epidemiologia	5
3.2 Agente etiológico.....	8
3.3 Mecanismo de patogenicidade.....	8
3.4 Mecanismos de Transmissão da Brucelose	10
3.5 Diagnóstico clínico.....	11
3.6 Brucelose Aguda	11
3.7 Brucelose Crônica	12
3.8 Diagnóstico Laboratorial.....	13
3.9 Tratamento	14
3.9.1 Tratamento da Brucelose Aguda.....	14
3.9.2 Tratamento da Brucelose Complicada	15
3.9.3 Tratamento da Brucelose para grupos especiais	15
4. Formas de prevenção.....	17
5. ARTIGO	18
<i>ABSTRACT</i>	18
<i>INTRODUCTION</i>	19
<i>METHODS</i>	20
<i>RESULTS</i>	21
<i>DISCUSSION</i>	27
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

1. INTRODUÇÃO

No decorrer dos últimos anos está cada vez mais evidente que o conceito "One Health" tem se tornado essencial na resolução e prevenção de doenças relacionadas à saúde humana e animal. Os seres humanos dependem dos animais para sobrevivência alimentar e desenvolvimento socioeconômico. Perante esse cenário, esses mesmos animais podem transmitir uma série de doenças, denominadas zoonoses e algumas delas podem ser potencialmente fatais (Colombe et al., 2018)¹.

Foi estimado mais de 125 bilhões de dólares em perdas econômicas, considerando o custo econômico mais ampliado de algumas doenças que atingem pessoas e animais globalmente no período entre 1995-2008 (Pessegueiro; Barata e Correa., 2003)². A importância desse conceito vem ao encontro da evolução do número de casos de Brucelose desde a sua primeira identificação em 1887 (*B. melitensis* por David Bruce). Com isso novas espécies surgiram, com novas características, resultando dessa forma, em uma maior interação com a saúde humana (Newcomb., 2008)³.

A Brucelose é caracterizada como uma zoonose altamente contagiosa, de etiologia bacteriana, causada por bactérias do gênero *Brucella* e é uma das mais disseminadas doenças infecciosas no mundo. Tem capacidade de provocar infecção crônica debilitante em humanos e está associada a altas taxas de mortalidade e/ou esterilidade em animais (Franco; Mulder e Gilman., 2007)⁴.

Esta doença de característica regional e sazonal está ligada principalmente à exposição ocupacional e doméstica (Deniz et al., 2015)⁵. A infecção pode ser transmitida tanto pelo contato direto/indireto com animais contaminados ou pelo consumo de produtos de origem animal que estão contaminados, além da exposição que pode ocorrer em casos de acidente vacinal, que acometem principalmente médicos veterinários (Hyeda; Sbardellotto., 2015)⁶.

Sua fisiopatologia ainda não está totalmente esclarecida, porém sabe-se que é uma doença de ordem sistêmica, podendo vir a atingir qualquer órgão do corpo humano de forma aguda, subaguda ou crônica. Além disso, apresenta sintomatologia variável dificultando o diagnóstico e tratamento precoce (Pappas et al., 2006)⁷.

Dados mundiais relacionados à epidemiologia da brucelose humana (BH) revelam que não é possível estimar sua verdadeira incidência, pois o número estimado de casos pode ultrapassar cinco vezes os dados oficiais. Além disso, a falta de notificação e o diagnóstico adequados dificultam ainda mais a veracidade de dados estatísticos (Carvalho et al., 1995)⁸.

O enfoque na saúde pública assume um papel importante quando se fala em Brucelose Humana, pois além de afetar a médio e longo prazo trabalhadores e donos de propriedades rurais, podendo ocasionar incapacidade ou diminuição parcial em seus trabalhos, pode afetar significativamente a fabricação de produtos de origem animal, de modo a impactar diretamente na saúde humana, economia e comércio ligados à produção animal (Ministério da Saúde., 2004)⁹.

O Brasil, quanto ao Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), possui um papel de fundamental importância relacionado às políticas públicas de saúde humana e animal. Esses programas auxiliam no gerenciamento das doenças, de modo a fortalecer a situação do país, mediante aplicação de diretrizes de prevenção, vigilância, controle e erradicação de doenças dos animais terrestres e aquáticos (Ministério da Agricultura, 2013)¹⁰. Para tanto, a notificação obrigatória de zoonoses, tanto na suspeita quanto na ocorrência, é importantíssima para atuação precoce e efetiva do Serviço Veterinário Oficial, visando manter a melhor situação para a saúde animal e colaborar na promoção de saúde humana.

Para o MAPA, a Brucelose, juntamente com a tuberculose bovina, possui papel de destaque no Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal – PNCEBT, instituído em 2001, e que recentemente foi revisto pela Instrução Normativa SDA nº 10, de 3/03/2017. O programa tem por objetivo reduzir a prevalência e a incidência dessas doenças em bovinos e bubalinos, visando a erradicação (Ministério da Agricultura., 2019)¹⁰.

A estratégia de atuação do PNCEBT é baseada na classificação das unidades federativas quanto ao grau de risco para essas doenças e na definição e aplicação de procedimentos de defesa sanitária animal, de acordo com a classificação de risco. São também preconizadas um conjunto de medidas sanitárias compulsórias, associadas a ações de adesão voluntária. As medidas compulsórias consistem na vacinação de bezerras entre os três e oito meses de idade contra a brucelose e o controle do trânsito de animais. Já as voluntárias consistem na certificação de propriedades livres de brucelose ou de tuberculose (Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose

e da Tuberculose Animal (PNCEBT), 2017)¹⁰.

A eficácia de um programa nacional de promoção de saúde animal, qualquer que seja a doença envolvida, depende em parte da qualidade e padronização dos meios de diagnósticos utilizados. Para tanto, o PNCEBT, padroniza critérios de diagnóstico e interpretação adequados para definição, controle e erradicação da doença.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliação e descrição dos casos de Brucelose Humana (BH) no estado do Paraná após relato de um surto no município de Paiçandu num abatedouro de bovinos.

2.2 Objetivos específicos

- Descrição dos casos de BH no estado do Paraná, no período de janeiro de 2014 a janeiro de 2018;
- Avaliação epidemiológica dos casos de BH no estado do Paraná frente aos dados clínicos e resultados sorológicos obtidos no período de janeiro de 2014 a janeiro de 2018;
- Análise histórica dos resultados sorológicos obtidos no período de 2009 a 2018;
- Avaliação do impacto da implementação do Protocolo de Brucelose Humana, após o surto de casos confirmados na cidade de Paiçandu – PR;

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Epidemiologia

Seus hospedeiros são variáveis e estão presentes em localizações geográficas específicas. Trata-se de uma doença pouco diagnosticada e sua verdadeira incidência é desconhecida devido a uma variedade de sistemas de vigilância sanitários falhos (Ministério da Agricultura., 2017)¹⁰.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), acredita-se que, mesmo em países desenvolvidos, a incidência seja cinco vezes maior que a relatada, devido a falha no diagnóstico que é resultado do quadro clínico inespecífico, inadequação de diagnóstico e terapêutica e, conseqüentemente, a subnotificação. A distribuição geográfica da doença inclui países historicamente endêmicos, como Portugal, França, Itália, Grécia, Espanha, Turquia, Norte da África, México, Caribe e Oriente Médio. Uma das hipóteses para o aumento da prevalência da doença se dá devido às altas taxas de migração e turismo internacional (SESA - SEVS - CEVA., 2015)¹¹.

Além de ser considerada uma doença reemergente e seu patógeno como agente potencial para bioterrorismo, outra hipótese que pode justificar o aumento significativo da doença nos últimos anos são os surtos, que acontecem quando ocorre um aumento repentino do número de casos em uma região específica e, no caso da brucelose, normalmente estão relacionados à exposições acidentais ocupacionais (Greenfield et al., 2002)¹².

Um surto que ocorreu em Penang, na Malásia, no período de março de 2011 a abril de 2012, foi relatado como o maior surto de brucelose na região, pois nesse local a doença não é endêmica. O caso índice foi com o proprietário da fazenda de cabras de 45 anos, que permaneceu com os sintomas pelo período de três semanas e alegou ter consumido leite não pasteurizado e vendido ao público. Após uma análise epidemiológica no período de um ano, 79 pessoas foram diagnosticadas com brucelose, sendo que, ao final do tratamento, um terço dos pacientes apresentaram sequelas e 21% dos casos apresentaram recidiva (Leong et al., 2015)¹³.

Outro surto relatado no ano de 2006 em Israel, trouxe um caso de transmissão de uma gestante de 24 semanas de gestação que, ao receber o diagnóstico de placenta prévia, após sangramento e choque hipovolêmico, necessitou realizar uma cesariana de emergência. Após a cirurgia, cinco casos de contaminação, incluindo a gestante e o lactente (que foi à óbito), foram confirmados e mais 95 casos suspeitos foram relatados e após investigação, negativados. A espécie de *Brucella* isolada foi *B. melitensis* e a conclusão ao final da investigação foi que a contaminação ocorreu por exposição ao feto contaminado e que, apesar de todos estarem devidamente protegidos, a cirurgia foi dificultada pela extração placentária, sangramento uterino maciço e um derrame de líquido amniótico, o que provavelmente resultou na contaminação do ambiente e, conseqüentemente, da equipe que realizava o procedimento (Mesner et al., 2007)¹⁴.

No período de 2012 a 2016, a *European Centre for Disease Prevention and Control*, publicou relatórios com os dados epidemiológicos de casos notificados anualmente nos países Europeus. Em 2016, foram 549 casos reportados e, desses, 524 foram confirmados. A taxa de notificação durante esse período de quatro anos manteve-se estável com pequenas variações. Contudo, os principais dados observados foram a taxa de notificação (0,10 casos por 100.000 habitantes) observada na faixa etária entre 45 e 64 anos, sendo os principais países afetados Grécia, Portugal e Itália (ECDC., 2014, 2015, 2016)¹⁵.

O Brasil é o país que abriga a maior população comercial de bovinos no mundo, sendo esse um fator presumível de risco para o aumento da prevalência da brucelose humana causada pela *B. abortus*. Contudo, além da estimativa epidemiológica acerca dessa doença ser escassa, sua prevalência real é desconhecida, tanto por não se tratar de uma doença de notificação compulsória como pela dificuldade de meios de diagnósticos (Coura, 2013; Cardoso Costa, 2011)^{16, 17}.

De acordo com o Sistema de Informações Hospitalares do SUS do Ministério da Saúde, entre janeiro de 2008 a abril de 2011 houve 108 internações devido à brucelose, sendo a média de dias de internação de 9,5 dias e o número de óbitos chegando a 4 nesse período (Combravet., 2008)¹⁸. Contudo, a incidência da brucelose humana no Brasil é subestimada devido ao quadro clínico da doença ser extremamente variável, o que leva a falta de notificação às autoridades sanitárias pelo diagnóstico errôneo realizado pelos médicos (Germano., 2003)¹⁹.

É possível constatar que, entre as doenças infecciosas transmissíveis ao homem, a brucelose na espécie humana continua a ocupar um risco de saúde pública, de difícil diagnóstico, tratamento, controle e erradicação (Soares et al., 2015)²⁰. Além disso, a brucelose tem lugar de destaque quando se fala em doença ocupacional por afetar profissionais da área agropecuária (que lidam com animais ou produção leiteira), funcionários de açougues (que participam diretamente do abate de animais e estão expostos ao sangue, carcaças e vísceras), além de médicos veterinários e profissionais de laboratório (microbiologistas). A doença faz parte da lista de doenças infecciosas e parasitárias relacionadas com o trabalho, sendo classificada no Grupo I do Código Internacional de Doenças - CID 10 (Ministério da Saúde., 1999)²¹.

3.2 Agente etiológico

A Brucelose é causada por bactérias do gênero *Brucella* spp., pertencente a uma $\alpha 2$ subdivisão das proteobactérias, juntamente com *Ochrobactrum* spp, *Rhizobium* spp, *Rodobacter* spp, *Agrobacterium* spp, *Bartonella* spp e *Rickettsia* spp. São cocobacilos ou bastonetes curtos, Gram-negativos, imóveis, não formam cápsulas, esporos ou flagelos. São aeróbios, mas algumas cepas (*B. ovis*) requerem um complemento de 5 a 10% de CO₂ para seu crescimento. São observados no microscópio em cadeias curtas ou, na maioria das vezes, isolados (Moreno et al., 1990)²¹.

Possui uma membrana externa muito semelhante à de outros bacilos Gram-negativos. Para o correto isolamento da bactéria, alguns meios seletivos têm sido utilizados. Seu crescimento em meio sólido necessita de 48 horas de incubação a 37 °C, contudo, seu crescimento pode ser estimulado com a adição de proteína animal, como extrato de fígado e uma concentração específica de glicose (BD, 2003; Yagupsky, 1999)^{22, 23}.

Sua classificação inclui uma gama amplamente diversificada baseada em seus hospedeiros preferidos, incluindo mamíferos aquáticos e terrestres, como suínos, bovinos, caprinos, ovinos, cães, golfinhos, baleias, focas e ratos madeira do deserto. Atualmente seis patógenos pertencem o gênero *Brucella*, *B. abortus* (bovinos), *B. melitenses* (ovelhas e cabras), *B. suis* (porcos), *B. ovis* (ovelha), *B. canis* (cães) e *B. neotomae* (ratos do deserto de madeira). Novos isolados foram relatados e, provisoriamente, chamados de *B. inopinata* (humanos), *B. pinnipedialis* e *B. ceti* (mamíferos aquáticos) e *B. microti* (ratazana), sendo esses reconhecidos como novas espécies, elevando o número para dez espécies no gênero (Pappas et al., 2005; Murray et al., 2005)^{24, 25}.

3.3 Mecanismo de patogenicidade

A parede celular é semelhante à das bactérias Gram-negativas. Possui duas camadas externas e, anteriormente a estas camadas, possui uma camada

espessa de

peptídeoglicanos, constituída por fosfolipídios (camada interna) e lipopolissacarídeo (camada externa) – (LPS), sendo este antígeno o mais importante componente na resposta imune dos anticorpos durante a infecção por *Brucella* (Figueiredo et al., 2015)²⁶.

Dentro do hospedeiro, *Brucella* possui forte tropismo tecidual replicando-se dentro de vacúolos de macrófagos, trofoblastos placentários e células dendríticas. Dessa forma, modula a resposta imune do hospedeiro e dissemina-se para os tecidos. Seu “estilo de vida intracelular” dificulta as repostas imunes inatas e adaptativas, de modo a diminuir o efeito de alguns antibióticos e participa das características da doença nos hospedeiros, dividindo-a em três fases: (i) fase de incubação, antes dos sintomas clínicos serem evidentes; (ii) fase aguda, na qual a bactéria invade e multiplica-se no tecido do hospedeiro e (iii) fase crônica, podendo eventualmente resultar em danos severos e/ou morte do hospedeiro (Martirosyan et al., 2013)²⁷.

Após a adesão, internalização, sobrevivência e replicação da *Brucella* nas superfícies suscetíveis dos hospedeiros, ocorre uma ligação à superfície das células epiteliais da mucosa, induzindo um mecanismo semelhante a um “zíper” para internalização (Elsa et al., 2004)²⁸. Após a sua invasão, ela interage por um determinado período com o compartimento intracelular relacionado à rede endocítica precoce, que se transformará em vacúolo autofágico membranosos. Esse vacúolo é controlado por brucelas virulentas que, ao controlarem a sua maturação, permitem a geração de uma organela replicativa, onde a replicação maciça intracelular ocorre (Pizzarro et al., 1998; Rossetti et al., 2012)^{29, 30}.

No caso das fêmeas bovinas em idade de reprodução e eventualmente os machos, *Brucella* multiplica-se no interior dos fagócitos, disseminando-se principalmente pela via hematogênica, acometendo principalmente úteros gravídicos (ocorre devido à produção do hormônio eritritol, que funciona como um fator estimulante de atração e crescimento para as *brucelas*), tecidos mamários, ósteo-articulares e órgãos do sistema reprodutor masculino. No caso das fêmeas pode provocar aborto, retenção de placenta, endometrites, corrimentos vaginais e mastites e nos machos, orquite, epididimite e esterilidade. O aparelho locomotor também pode sofrer danos, como espondilites em vértebras torácicas e lombares e bursites (Grasso., 1998)³¹. As espécies mais patogênicas ao homem incluem *B. melitenses*, *B. abortus* e *B. suis*. No Brasil, a maioria dos casos de brucelose está associada à

infecção por *B. abortus* (Tuon et al., 2017)³².

3.4 Mecanismos de Transmissão da Brucelose

A transmissão da brucelose raramente acontece de humano para humano. Poucos estudos de casos comprovados relatam a aquisição da infecção de origem humana pela transmissão da mãe para a criança através da circulação placentária, exposição a secreções da mãe durante o parto, amamentação (Vierucci, 1963; Palanduz et al., 2000)^{33, 34}, transfusão de sangue (Akçakus et al., 2005)³⁵, transplante de medula óssea (Ertem et al., 2000)³⁶ e contato sexual (Ruben et al., 1991)³⁷.

Sua via principal de transmissão ocorre por meio da ingestão de leite ou derivados de animal infectado não pasteurizado, manipulação de carne contaminada, contato direto com animal doente ou feto abortado e manipulação incorreta da vacina (B19) (Yumuk et al., 2012; SESA - SEVS - CEVA., 2015)^{38, 11}. Isso acontece porque após o parto as bactérias são eliminadas do útero, mas o animal permanece portador da doença por tempo indeterminado (Conceição et al., 2005)³⁹.

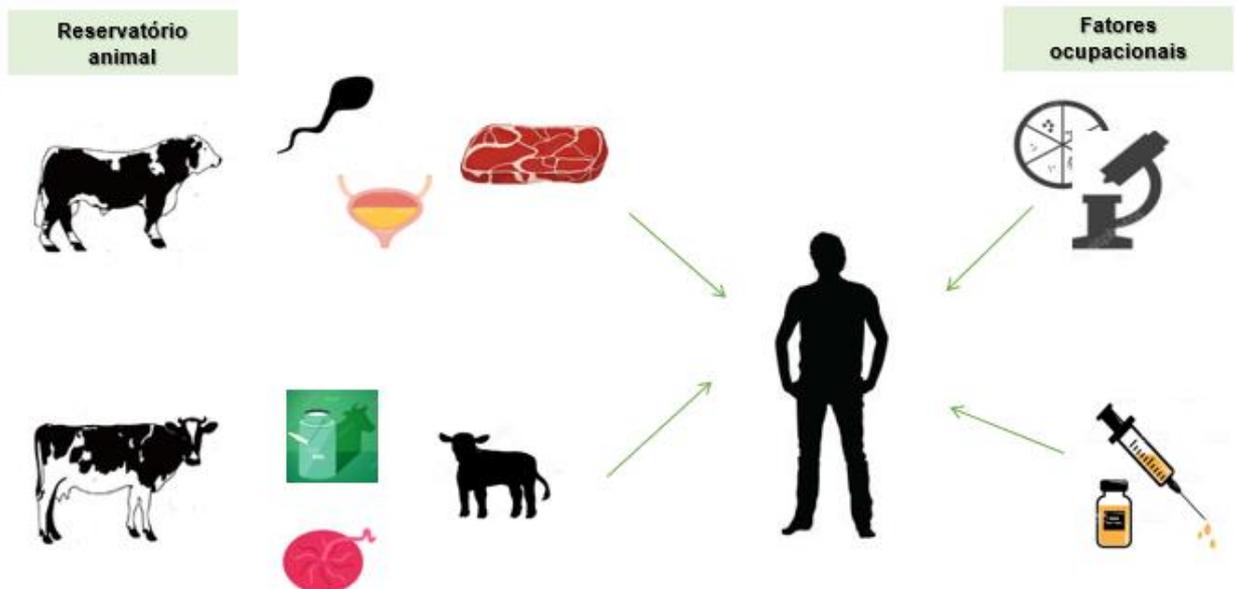


Fig 1. Mecanismo de Transmissão da Brucelose Humana, Animal x Humano.

3.5 Diagnóstico clínico

Possui uma gama muito variável de manifestações clínicas totalmente inespecíficas, incluindo sudorese noturna, febre, artralgia, astenia, anorexia e dor lombar. Por esse motivo, se tornou uma doença de difícil diagnóstico, podendo ser confundida com patologias comuns, como doenças vasculares, malária, tuberculose, febre reumática ou leishmaniose. Por isso, requer do profissional clínico conhecimento epidemiológico e suspeita clínica (Aygen et al., 2002)⁴⁰. Além disso, é caracterizada por frequentes complicações que determinam a brucelose na fase crônica, como espondilodiscite, sacroileíte, meningite, meningoencefalite e endocardite, dessa forma exigindo diferentes estratégias quando ocorrem manifestações sistêmicas (Cunha et al., 2012; Mantur et al., 2007; Buzgan et al., 2010)^{41, 42, 43}.

3.6 Brucelose Aguda

A classificação da doença também pode basear-se nas diferentes formas clínicas, duração da sintomatologia e a conclusão da terapia antimicrobiana correta. A fase aguda apresenta um período de incubação que pode variar entre duas a três semanas, acompanhada de febre alta (podendo apresentar-se remitente, intermitente, irregular ou ondulante), sudorese profusa (predominantemente noturna) e mialgia generalizada. Aproximadamente 40% dos casos envolvem ossos e articulações, sendo a sacroileíte comumente presente (Pappas et al., 2006; Andriopoulos et al., 2007)^{7, 44}.

3.7 Brucelose Crônica

Um dos problemas clínicos mais frequentes é o de diferenciar as formas aguda e crônica. Por isso, a maioria dos especialistas concorda que o termo “brucelose crônica” deve ser reservado para pacientes cujos sintomas clínicos persistem por 12 meses ou mais, desde o momento do diagnóstico. Por esse critério, os pacientes são divididos em três categorias: (1) recaídas, (2) infecção crônica localizada e (3) convalescença. Sendo necessário utilizar o esquema terapêutico por longos períodos, com isso, as recidivas são frequentes e a maioria ocorrem entre três a seis meses após a interrupção da medicação (Cunha et al., 2012; Aygen et al., 2002)^{40, 41}.

A recaída é definida como a recorrência de sinais e sintomas característicos da doença, ocorrendo após o curso completo do tratamento. Pacientes com recaídas têm claramente sinais de infecção, como febre e anticorpos IgG no soro. A maioria das recaídas ocorre seis meses após a terapia ser interrompida e não é relacionada à resistência aos antibióticos, podendo repetir o tratamento com as mesmas drogas. A convalescença tardia é definida por persistência de sintomas, sem sinais objetivos de infecção (febre) em pacientes que completaram o tratamento; os títulos de anticorpos diminuem ou desaparecem e alguns doentes não são beneficiados com repetição de antibioticoterapia (Mantur et al., 2007)⁴².

Devido à sua variedade de sintomas, a BH é por vezes confundida com outras doenças. Por isso, para o estabelecimento do diagnóstico ou grau de suspeita é imprescindível conhecer a história epidemiológica fornecida pelo paciente, história de viagens, assim como de exposição a animais de pastoreio e ingestão de laticínios e seus derivados (Ariza et al., 1995)⁴⁵.

3.8 Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico definitivo de brucelose requer um exame bacteriológico positivo, isto é, a identificação de *Brucella* proveniente do sangue, da medula óssea ou, mais raramente, de outros líquidos orgânicos (líquido cefaloraquidiano, líquido sinovial ou exsudado de abcesso). Devido ao lento crescimento desse micro-organismo, a cultura deve persistir no mínimo entre quatro a seis semanas. Sua sensibilidade varia de acordo com as práticas laboratoriais e os métodos utilizados para coleta da amostra. As culturas apresentam um percentual de positividade em 50 a 70% dos casos, tendo uma probabilidade maior de isolamento do micro-organismo no sangue, uma vez que na fase de bacteremia a sua quantidade é mais elevada. Entretanto, em doentes com infecção crônica, a sensibilidade da cultura pode ser baixa. No caso da utilização do teste de Rosa Bengala, o mesmo só deve ser utilizado para inquéritos epidemiológicos, pois sua positividade indica contato com o agente e não necessariamente infecção e, além disso, os resultados podem permanecer positivos por dois ou três anos, sendo necessária associação com outros testes para confirmação. (Akçakus et al., 2005; Mantur et al., 2007; Solera et al., 1998)^{35, 42, 46}.

Além do teste de Rosa Bengala, outros testes podem ser utilizados, como teste de soro aglutinação (SAT), dosagem de imunoglobulinas IgG e IgM, teste de ELISA e o teste de PCR (reação em cadeia da polimerase). Quando a confirmação bacteriológica não é possível o diagnóstico é sorológico, baseando-se na detecção de títulos elevados ou da subida de anticorpos específicos (Arizaet al., 1986)⁴⁷.

3.9 Tratamento

3.9.1 Tratamento da Brucelose Aguda

De modo geral, além de tratar a infecção por brucelose para que haja a cura do paciente, é necessário que também haja prevenção da recidiva. Por isso, quanto mais precoce for o tratamento, mais sucesso no tratamento o médico e o paciente terão. É importante salientar que em casos complicados pode haver necessidade de tratamento adicional ou até mesmo intervenção cirúrgica.

De acordo com os *guidelines* definidos pela OMS, para cada tipo de classificação existe um tratamento adequado (Pessegueiro et al., 2003)². No caso da brucelose não complicada em adultos e crianças, com idade igual ou superior a oito anos, o tratamento pode assumir duas formas. Uma das formas recomendadas é uso da monoterapia com doxiciclina, porém a taxa de recidiva varia de 10 a 20%. Por isso, é imposto a associação de doxiciclina (100 mg administrados oralmente e em regime bidário, durante seis semanas) e estreptomicina (1 g diariamente, via intramuscular, durante duas a três semanas) Quando utilizado esse esquema terapêutico, a taxa de recidiva reduz para 5 a 10% (Kilic et al., 2013)⁴⁸.

Em casos de incapacidade de internamento hospitalar é utilizada a alternativa de associação de doxiciclina (200 mg diariamente) com rifampicina (600 – 900 mg diariamente), ambas durante seis semanas e administradas oralmente. Porém, esse regime é menos eficaz na prevenção de recidivas, que podem acontecer devido à interação que ocorre entre os antibióticos, na qual a rifampicina promove o aumento do *clearance* plasmático de doxiciclina, podendo conduzir à falha terapêutica. A utilização de rifampicina deve ser cautelosa e só deve ocorrer em caso de exclusão de diagnóstico de tuberculose, pois em caso de utilização em monoterapia pode induzir à resistência (Solera et al., 1998)⁴⁶.

Outra possibilidade de associações terapêuticas inclui fluorquinolonas com doxiciclina ou rifampicina, ou trimetropim/sulfametoxazol em associação com doxiciclina, estreptomicina ou rifampicina. O desaparecimento dos sintomas ocorre entre quatro a catorze dias após o início do uso de antibióticos e após o início do tratamento. O agravamento agudo, intenso e transitório dos sintomas pode ocorrer,

mas sem necessidade de interrupção do tratamento (Shehab et al., 1990)⁴⁹.

3.9.2 Tratamento da Brucelose Complicada

Em situações de brucelose complicada pode haver necessidade de prolongamento do tratamento para no mínimo doze semanas. A ineficácia do tratamento pode ocorrer devido ao uso incorreto do antibiótico prescrito e, em casos esporádicos, ao desenvolvimento de resistência ao fármaco. Para complicações osteoarticulares o tratamento é diversificado. Em casos de sacroileíte são necessárias seis semanas. A espondilite, a osteomielite e as complicações associadas (abscesso paravertebral e epidural, por exemplo) necessitam de pelo menos oito a nove semanas de tratamento. Em doentes com neurobrucelose a ação do fármaco dependerá primariamente da penetração no sistema nervoso central (SNC). Para casos de endocardite há necessidade de o antibiótico atingir concentrações elevadas nas vegetações valvulares e, por isso, deve-se utilizar terapias triplas nestes casos. O tratamento é longo, podendo variar de oito a seis meses e, em alguns casos, pode prolongar-se por até três anos. Em casos de necessidade de intervenção cirúrgica, o tratamento deve ser mantido até que ocorra a intervenção (Yousefi et al., 2012)⁵⁰.

3.9.3 Tratamento da Brucelose para grupos especiais

A intervenção em recém-nascidos e crianças menores de oito anos permanece indefinida. Embora seja de conhecimento geral que tetraciclina não podem ser administradas neste grupo, ainda não foi esclarecido qual o regime mais eficaz a aplicar. Segundo a OMS, a terapia de primeira linha consiste na combinação de trimetoprim/sulfametoxazol (8/40 mg/Kg/dia, toma bidiária, via oral, durante seis semanas) com estreptomicina (30 mg/kg/dia, em toma única diária, via intramuscular, ao longo de três semanas) ou com gentamicina (5 mg/kg/dia, em tomada única diária, endovenosa ou intramuscular, durante sete a dez dias) (WHO., 2004)⁵¹. Em

alternativa, pode estar indicado o uso de trimetoprim/sulfametoxazol e rifampicina (15 mg/kg/dia, em toma única diária, via oral), ambos durante seis semanas, ou a combinação de um aminoglicosídeo com rifampicina (Tierney et al., 2001)⁵².

Para gestantes o diagnóstico precoce é de fundamental importância devido à restrição que alguns fármacos possuem por atravessarem a barreira placentária e causarem toxicidade ao feto. Por isso, é recomendada a administração de elevadas doses de trimetoprim/sulfametoxazol ou de rifampicina ao longo de quarenta e cinco dias. Em doentes com idade superior ou igual a cinquenta e cinco anos, a estreptomicina deve ser evitada devido à sua ototoxicidade. Um estudo, realizado em 2012 sugere que esta deve ser substituída em todos os casos por gentamicina (3-5 mg/kg/dia, em toma única diária, endovenoso ou intramuscular), dada a sua menor toxicidade (Solis et al., 2012)⁵³.

4. Formas de prevenção

Devido a fragilidade imunitária e vulnerabilidade do doente após o tratamento, é necessário que haja vigilância médica durante aproximadamente dois anos para que haja detecção precoce de possíveis recidivas. Tendo em vista que a brucelose é uma doença ocupacional, é necessário que haja controle e erradicação da doença nos animais como forma de prevenção para transmissão ao homem. Atualmente existem vacinas disponíveis para que haja a imunização, controle e prevenção da doença em animais. Em casos de risco ocupacional devem ser tomadas medidas de higiene sanitárias e uso de equipamentos de proteção individual EPIs (EPIs). Com relação às possíveis fontes de contaminação alimentares, o não consumo principalmente de leite e produtos lácteos não pasteurizados seria uma das formas de prevenção para possíveis contaminações humanas (Fontes et al.,2014; Heymann.,2005; Lawinsky et al.,2010)^{54, 55, 56}

5. ARTIGO

PLoS Negl Trop Dis. 2018 Sep; 12(9): e0006770.

Published online 2018 Sep 18. doi: 10.1371/journal.pntd.0006770

PMCID: PMC6161910

PMID: 30226890

Outbreak of human brucellosis in Southern Brazil and historical review of data from 2009 to 2018

Tamilly Silva Lemos, Juliana Clelia Cequinel, Tania Portela Costa, Amanda Boni Navarro, Andressa Sprada, Flávia Kazumi Shibata, Regina Gondolfo, and Felipe Francisco Tuon

Abstract

Background

Human brucellosis (HB) is a bacterial zoonosis that is more frequent in low income and middle-income countries; it is sometimes associated with outbreaks. The aim of this study was to describe the largest outbreak of HB in Brazil.

Methods

A retrospective cohort study of patients suspected of having contracted HB in the state of Paraná, Southern Brazil from January 2009 to January 2017. Following an outbreak of 51 cases of HB in a slaughterhouse at Paiçandu in 2014, HB was defined as an obligatory reportable disease in the State. Diagnostic tests for HB included serum agglutination, ELISA (IgG or IgM) and polymerase chain reaction (PCR). Clinical, laboratorial and epidemiological data were analyzed. A *P* value of 0.05 was considered statistically significant.

Results

Out of a total of 3,941 patients, 754 presented with a positive test result for HB. After 2014, there was a significant increase in the number of cases, exceeding 100 cases per trimester. In the beginning of 2015, the workgroup of HB started several actions for prevention and treatment, and the number of cases progressively diminished to fewer than 20 cases per trimester. Of 191 reported cases, an occupational risk was found in 84.7%; most cases occurred in farmers (60.0%), veterinarians (17.6%) and slaughterhouse workers (14.7%). Manipulation of animals and unpasteurized milk consumption were associated with positive *Brucella* IgM ELISA with an odds ratio (OR) of 1.42 (1.09–1.84) and 1.48 (1.01–2.15), respectively.

Conclusions

HB outbreaks can occur in low to middle-income countries and are associated with slaughterhouse work, handling of unpasteurized milk and animal manipulation. Intensive programs for control of HB are important to reduce the number of cases.

Author summary

Human brucellosis (HB) is a bacterial zoonosis more frequent in low income and middle-income countries. The number of cases has increased in Southern Brazil since 2014. Considering the risk of dissemination of the disease, the authors evaluated the whole spectrum of the disease in the State of Paraná, where cases were reported. More than 3,500 patients at risk for the disease were evaluated and 754 presented with positive blood test results for human brucellosis. The local Health Agency established a program of brucellosis treatment and prevention in the following year. After the intensive control program, there was a significant reduction in the number of HB cases. Human brucellosis (HB) is a bacterial zoonosis more frequent in low income and middle-income countries. The number of cases has increased in Southern Brazil since 2014. Considering the risk of dissemination of the disease, the authors evaluated the whole spectrum of the disease in the State of Paraná, where cases were reported. More than 3,500 patients at risk for the disease were evaluated and 754 presented with positive blood test results for human brucellosis. The local Health Agency established a program of brucellosis treatment and prevention in the following year. After the intensive control program, there was a significant reduction in the number of HB cases.

Introduction

Human brucellosis (HB) is a bacterial zoonotic infection caused by *Brucella* spp. and is transmitted from several sources to humans. The main sources are cattle, sheep, goats, and pigs, which transmit the microorganism to humans through direct contact with infected animals or ingestion of contaminated food products [1]. The Gram-negative bacillus is transmitted through inhalation or the gastrointestinal route, causing a polymorphic acute or chronic inflammatory disease [2]. HB-related mortality rate was less than 1% of cases as reported by Buzgan et al. [3]. Nevertheless, the burden of disability caused by acute brucellosis is similar to that of acute malaria [4].

The burden of HB is not well defined because its incidence is always underestimated. Active surveillance of HB is not routinely performed, and most of the cases in low- and middle-income countries are poorly investigated [5]. The number of HB cases has decreased in industrialized countries, but it remains a concern in low- and middle-income countries.

In Brazil, brucellosis in cows [6], dogs [7], buffalos [8], sheep [9], goats [10], deer [11], horses [12], dolphin [13], and other animals has been reported. Human cases [14] and outbreak of laboratory-acquired *Brucella abortus* [15] have been described sporadically. However, serosurvey studies suggest that the infection is more prevalent than reported [16, 17].

Since the first case that was published in Brazil in 1934 [18], HB has been reported throughout the country, but it is generally restricted to workers of slaughterhouses, consumers of unpasteurized milk from areas of high incidence of bovine brucellosis [19], and agricultural workers [20]. In this study, we described the largest HB outbreak in Brazil.

Methods

Study design

We used the STROBE Statement for cohort studies to report the results and describe the methods. The study was approved by the ethical committee at PUC-PR (84644718.3.0000.0020). This retrospective cohort study included patients suspected to be infected with HB in the state of Paraná, Southern Brazil.

Ethics statement

Informed consent was not necessary because this was a retrospective study. The authors guarantee the security of the data.

Setting

In May 2015, HB was made statutorily reportable in Parana, Brazil. All probable or laboratory-confirmed new brucellosis cases were required to be reported. This decision was taken by the State Department of Health of Parana (SDHP) due to an outbreak comprising 51 HB cases in a slaughterhouse at Paiçandu in 2014. Thus, we evaluated the clinical data from January 2014 to January 2018 by active surveillance. Since March 2009, all laboratory tests for brucellosis are registered in the laboratory system of SDHP. We evaluated the positivity of serum tests for HB from March 2009 to January 2018. The tests used to detect HB included serum agglutination (Bengal Rose), ELISA (IgG or IgM), and polymerase chain reaction (PCR). When multiple tests provided different results in a patient, we considered only positive results. These results were used only for historical analysis of positive test results and not for case definition (see below).

Case definition

Brucellosis cases were classified according to the guidelines for the management of HB in Paraná, Brazil [21].

Suspected case: any patient with acute or insidious fever plus clinical manifestations of HB plus an epidemiological link with infected animals or contaminated food or contact of a confirmed case.

Confirmed case: a suspected case with positive test results for *Brucella* spp. (serum IgM by enzyme-linked immunoassay [ELISA] or detection of *Brucella* DNA by PCR).

Case excluded: a suspected case with negative laboratory findings and/or a confirmed diagnosis for another disease.

Laboratory tests

The current working group recommends laboratory tests for suspected cases and serology and molecular tests for the diagnosis of brucellosis. Laboratory tests required 2 mL of serum and 3–5 mL of blood to be collected in serum and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tubes, respectively. The serum was stored in a specific tube between 2°C and 8°C for 72 hours. After this period, the sample was stored at -20°C. The blood was then stored in EDTA tubes between 2°C and 8°C for 72 hours; the blood samples were not frozen. The materials used by this working group for the laboratory diagnosis of brucellosis were *Brucella*IgG and IgM

ELISA (Serion, Maringa, Brazil) and real-time PCR. The Rose Bengal test (Laborclin, Pinhais, Brazil) has high sensitivity and specificity, but positive results can occur in asymptomatic patients after exposure to *Brucella* or after vaccination [22]. Real-time PCR is considered as the gold standard method for HB diagnosis because *Brucella* can only be cultured in laboratories with at least a biosafety level 3 [23]. The PCR test was performed using BD MAX, an open system with completely automated equipment, and the DNA-1 extraction kit and BD MAX DNA MMK with Sample Processing Control Master Mix (BD Diagnostic Systems, Québec, ON, Canada). Real-time PCR for detecting *Brucella* spp. was performed with primers and probes that targeted the bcs31 gene (forward GCTCGGTTGCCAATATCAATGC and reverse GGGTAAAGCGTCGCCAGAAG) [24].

Data source and variables

Data, including patient anamnesis, exposure, clinical manifestations, and results of *Brucella* laboratory tests (ELISA and PCR) were obtained by local physicians.

Statistical methods

The incidence of HB was calculated based on the number of cases divided by the population of each city where cases were reported. The population sizes were obtained from the last population census conducted by the Brazilian Institute of Geography and Statistics in 2012 [25].

All variables were found to be correlated with the results of the serum *Brucella* IgG ELISA, *Brucella* IgM ELISA, and PCR. Moreover, a comparative analysis of all clinical and laboratorial data of confirmed and unconfirmed cases was performed.

Quantitative variables were expressed as mean with standard deviation (SD) and median with 25%-75% interquartile range (IQR). A comparative analysis of continuous data was performed using Mann-Whitney test (nonparametric) and Student's *t*-test (parametric). Categorical data were analyzed using a chi-square or Fisher's exact test (when any categorical data presented a value < 5 cases). A binary logistic regression was used to control confounding variables. A rate mapping was performed to visualize the change in the city over a period by city with free software TerraView (version 5.3.1). A *P* value of 0.05 was considered significant. For significant categorical data, the relative risk (RR) with a 95% of confidential interval (95% CI) was calculated. The statistical analysis was performed using SPSS 23.0.

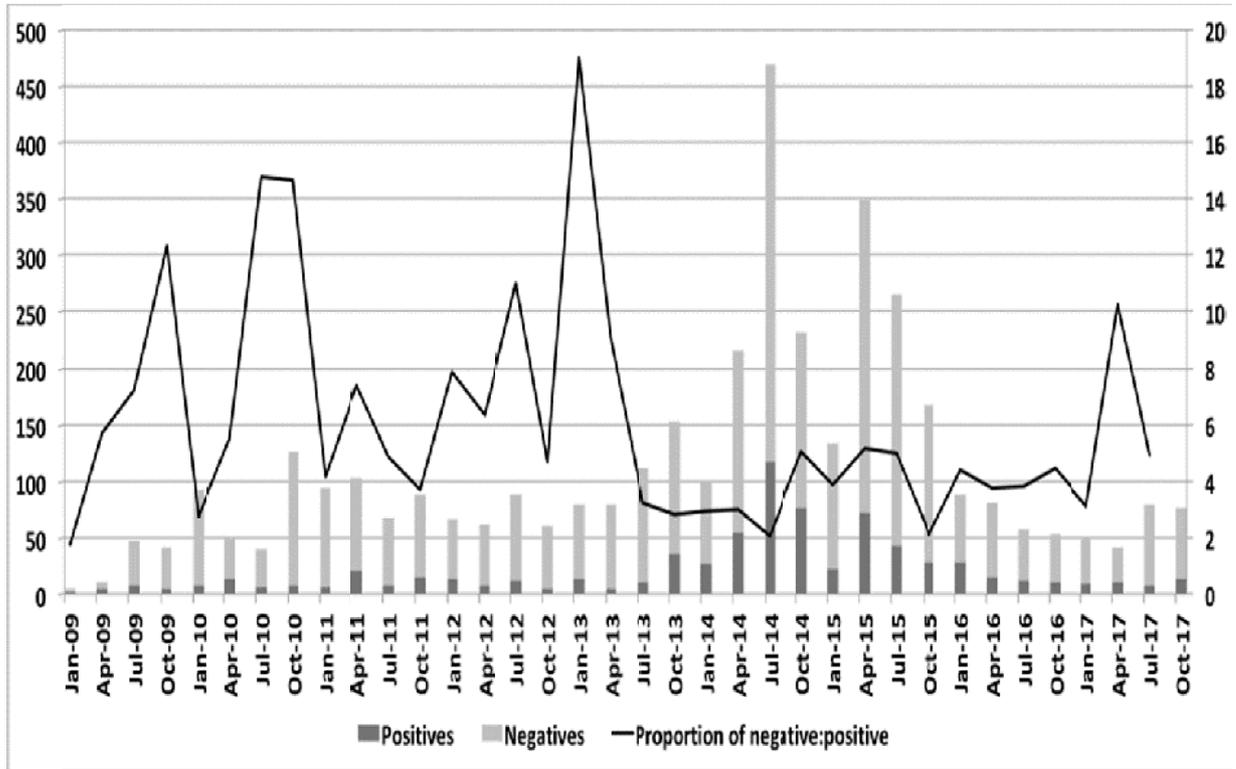
Results

A total of 9,523 tests for HB were performed in the state of Paraná between January 2009 and January 2018. However, within this period, 5,582 were repeated tests, and 3,941 were single tests (3,941 patients). From 3,941 patients, 754 tested positive for HB (673 by serum agglutination, 33 by ELISA IgG, and 48 by ELISA IgM). Fig 1 shows a histogram of the positive and negative test results in the period evaluated.

Fig 2

Number of positive (dark gray) and negative (light gray) test results for human brucellosis in the state of Paraná (Brazil).

The line represents the proportion of negative test results for each positive test result.

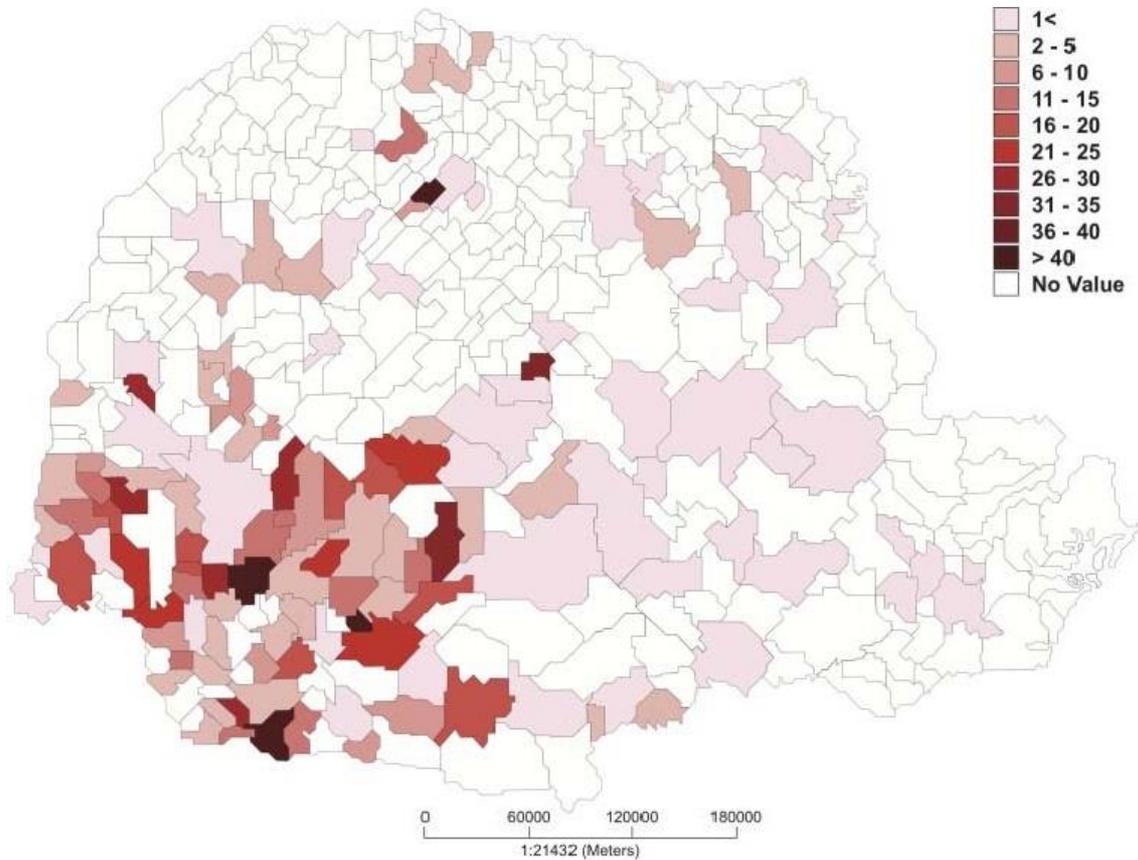


From 2009 to July 2014, only a small number of HB cases were reported (< 20 cases per trimester). However, after 2014, there was a significant increase in the number of cases, exceeding 100 cases per trimester. At the start of 2015, the HB workgroup started several preventive actions and treatments. After the guidelines were implemented, the number of cases progressively declined to fewer than 20 cases per trimester.

Considering only the number of clinically available patients, a total of 191 suspected HB cases were reported: 55 (28.8%) cases in 2014, 47 (24.6%) in 2015, 23 (12.0%) in 2016 and 66 (34.6%) in 2017. Based on the number of cases in each year, the incidence of HB in the state of the Paraná was 0.49, 0.42, 0.20, and 0.59 cases per 100,000 population, in 2014, 2015, 2016 and 2017, respectively. The mean age was 37.7 ± 15.5 years (median 35, IQR 26 – 49) with higher prevalence in males (n = 126, 66%). Of 170 cases, 144 (84.7%) had occupational risk (21 had missing occupation data most cases occurred in farmers (n = 102, 60.0%), veterinarians (n = 30, 17.6%), and slaughterhouse workers (n = 25, 14.7%). The state of Paraná is divided into 18 macroregions. Of the 18 regions, 9 accounted for 90.6% of cases (Fig 2). Approximately 74% of cases (n = 126) were from rural areas and 27.6% (n = 48) from urban areas. The distribution of cases per city is shown in Fig 2

Fig 3

Map of the state of Paraná and incidence of human brucellosis per city (cases/100.000 habitants/year) from January 2014 to January 2018



The prevalence of symptoms is detailed in Table 1. Myalgia/arthritis (54,1%), fever (40,7%), and night sweats (27,3%) were the most common symptoms. *Brucella* IgM Elisa was performed in 150 patients, and 89 patients tested positive for *Brucella* infection (59,3%). *Brucella* IgG Elisa was performed in 59 patients, with amplification in 4 patients (6,8%). Based on the diagnostic criteria, 90 of 191 patients were diagnosed with confirmed HB (47,1%).

Table 1

Description of reported cases of HB, relationship of variables with the number of cases, and valid percentages based on the data obtained from January 2014 to December 2017.

Dates	N	%
Cases notified	191	
Confirmed cases	90	47.1
Sex		
Female	65	34.0
Male	126	66.0
Occupational risk		
Farmer	102	70.8
Veterinarian	30	20.8
Slaughterhouse worker	25	17.3
Others	34	23.6
Área		
Rural	126	74.0
Urban	48	27.6
Exposure and risk		
Animal manipulation	101	86.3
Unpasteurized milk and derivatives	54	52.4
RB51 vaccine accident	27	32.9
Symptoms		
Myalgia/arthritis	79	54.1
Fever	55	40.7
Sweat	35	27.3
Weight loss	27	22.7
Malaise/asthenia	42	32.6
Headach	48	38.1
Laboratory tests		
Positive IgM Elisa	89	59.3
Positive IgG Elisa	30	39.5
Amplification in PCR	4	6.8

All patients with suspect HB with positive *Brucella* IgG ELISA were analyzed to check correlation between the test and clinical findings. The clinical, epidemiological, and laboratorial data are shown in Table 2. Unpasteurized milk was the only factor associated with positive *Brucella* IgG ELISA. Similarly, all patients with positive *Brucella* IgM ELISA were analyzed to check for any correlation with a positive test. The clinical, epidemiological, and laboratorial data are presented in Table 3. Animal manipulation, unpasteurized milk, and weight loss were factors associated with positive *Brucella* IgM ELISA (OR = 1.42 (1.09– 1.84), OR = 1.48 (1.01–2.15), and OR = 2.03 (0.92–4.33), respectively).

Table 2

Correlation of clinical, epidemiological, and laboratory data with positive *Brucella* IgG ELISA in 76 patients with suspected human brucellosis (HB).

	IgG -	IgG +	P value	OR (95% CI)
Data	(N = 46)	(N = 30)		
Epidemiologic				
Male	30	18	0.412	
Occupational risk	30	25	0.164	
Rural area	32	14	0.098	
Animal manipulation	23	10	0.477	
Unpasteurized milk	5	25	0.010	6.00 (2.69–13.35)
RB51 vaccine accident	5	3	0.141	
Age (mean ±S D)	35.2±17.8	36.8±15.5	0.702	
Symptoms				
Presence	34	20	0.483	
Fever	19	18	0.444	
Sweat	12	6	0.206	
Myalgia/arthritis	27	16	0.399	
Weight loss	16	1	0.088	
Malaise/asthenia	19	7	0.589	
Headache	22	7	0.486	
Tests				
Amplification in PCR	0	3	0.014	
Confirmed HB	7	24	< 0.001	

Table 3

Correlation of clinical, epidemiological, and laboratory data with positive *Brucella* IgM ELISA in 150 patients with suspected human brucellosis (HB).

	IgM -	IgM +	P value	OR (95% CI)
Data	(N = 61)	(N = 89)		
Epidemiologic				
Male	39	60	0.394	
Occupational risk	39	74	0.069	
Rural area	42	64	0.539	
Animal manipulation	34	53	0.046	1.42 (1,09 – 1,84)
Unpasteurized milk	20	23	0.023	1.48 (1.01 – 2.15)
RB51 vaccine accident	2	7	0.551	
Age (mean ±S D)	35.4±15.8	40,3±15.9	0.068	
Symptoms				
Presence	37	41	0.107	
Fever	21	19	0.333	
Sweat	14	14	0.539	
Myalgia/arthritis	27	16	0.399	
Weight loss	14	5	0.031	
Malaise/asthenia	27	32	0.519	
Headache	21	15	0.168	
Tests				
Amplification in PCR	1	1		
Reagent IgG	7	21	0,007	
Confirmed HB	1	86	< 0.001	

The 90 HB cases confirmed were found to be associated with animal manipulation, unpasteurized milk, exposure to RB51 vaccine, presence of symptoms, and weight loss (Table 4). A logistic regression was performed using the variables associated with confirmed HB cases, and none of the variables were independently associated with the confirmed HB cases.

Table 4

Correlation of clinical, epidemiological, and laboratory data with confirmed human brucellosis.

Data	Not confirmed (N = 98)	Confirmed (N = 90)	P value	OR (95% CI)
Epidemiologic				
Male	65	61	0.365	
Occupational risk	69	75	0.076	
Rural area	62	64	0.124	
Animal manipulation	34	53	0.037	1.49 (1.11–2.00)
Unpasteurized milk	53	34	0.004	1.48 (1.01–2.15)
RB51 vaccine accident	8	19	< 0.001	2.33 (1.27–4.28)
Age (mean ± SD)	35.8 ± 15.2	37.7 ± 5.5	0.094	
Symptoms				
Presence	43	60	0.040	1.38 (0.98–1.91)
Fever	34	21	0.226	
Sweat	20	15	0.497	
Myalgia/arthralgia	44	35	0.472	
Weight loss	6	21	0.029	2.00 (0.95–4.21)
Malaise/asthenia	28	14	0.120	
Headache	32	16	0.137	
Tests				
Amplification in PCR	0	4	0.009	-
Positive IgG ELISA	6	24	< 0.001	22.28 (6.69–74.22)

Discussion

In Brazil, the first HB case was reported in Rio de Janeiro in 1934 [18]. Since then, the number of reported cases has increased. To our knowledge, this study is the first to report a cohort of cases after the implementation of compulsory reporting of the disease. This political decision was made after an outbreak of 8 confirmed HB cases in a slaughterhouse in Paçandu (state of Paraná). The incidence of HB within this period was less than 1 case per 100,00 population. In China, reporting of HB cases has been compulsory for several decades. From 1970 to 2000, the incidence of HB was lower than 0.5 per 100,000 population [26]. In other endemic countries, such as Iraq [27], Azerbaijan [28], and Kyrgyzstan [29], the incidence

reached more than 100 cases per 100,000 population. These low-income countries are now facing challenges in diagnosing HB, as it is often misdiagnosed as tuberculosis, Q fever, typhoid fever, and malaria [30]. The incidence in developed countries is extremely low and is more frequent in immigrant patients or occur in individuals after travelling [31].

In this study, the outbreak was clearly defined in 2014, with more than 100 cases per trimester and fewer than 20 cases per trimester in the previous years. After the outbreak in the slaughterhouse was identified, an educational approach was initiated in the specific slaughterhouse as well as in other cities, and cases declined progressively in the following year.

The HB we reported can be considered an occupational disease, as it is associated with exposure to contaminated animals in slaughterhouses and manipulation of animal products, including unpasteurized milk. Most of the patients were young male adults, had high occupational risks, and lived in rural areas. The map (Fig 2) showed an evident dissemination of the disease in the State of Paraná. Despite the intensive vaccination of cattle with RB51 as a matter of policy in the state of Paraná, the vaccine is only available for dairy cattle.

The frequency of HB symptoms is comparable with that reported in the literature. However, most cases were not adequately reported by the local physicians. This underestimated some symptoms and signs and it was impossible to classify the different forms of HB. Most cases were subjectively classified as acute cases with the following classical symptoms: fever, arthralgia, and weight loss. We identified certain chronic forms of HB, but most of them were not adequately classified.

The diagnosis of HB is a real challenge because cultures are not available. The state of Paraná does not have a safety level 3 laboratory, and previous diagnoses were based only on serum tests, specifically the Bengal rose test. After the outbreak in Paiçandu, a molecular test was standardized by the central laboratory of the state using *B. abortus* isolated from one patient as a positive control. Molecular techniques have been employed as important tests for several diseases; however, we cannot extend this concept for HB. In most cases with typical symptoms, positive ELISA serum test results and clinical response to HB therapy with aminoglycoside and doxycycline contrast with undetectable DNA by PCR. The positive control developed in the lab and used in the PCR had high accuracy, as reported in the literature, but we cannot extend these results to clinical practice [32–34]. Unfortunately, PCR was not performed in most cases due to inadequate blood samples. The protocol uses EDTA tubes, and only the tubes used for serology had been sampled. Most diagnoses were based on the symptoms and IgM ELISA, a well-established method in the literature, despite false positive test results [35–37]. Considering all the challenges to the diagnosis and management of HB, a study group developed local guidelines to help physicians, local epidemiology divisions, and veterinarians in the diagnosis, management after exposure, and reporting of the disease [21].

The correlation of serum tests with epidemiological data showed that positive *Brucella* IgG ELISA was associated with the consumption of unpasteurized milk. Positive *Brucella* IgM ELISA was also associated with animal manipulation. ELISA for *Brucella* IgG is a sensitive test for acute and chronic infections. Patients with past infections also present with a positive *Brucella* IgG ELISA, and in rare cases, this test can be falsely positive due to its sensitivity, which ranges from 90% to 100% [38, 39]. In the context of this outbreak, positive *Brucella* IgG and IgM ELISA correlated with the risk factors associated with HB. Serum tests were fundamental in the diagnosis of HB, and PCR presented a low positivity, but

it was possible to diagnose one case based solely on PCR. Furthermore, PCR can be useful when serum tests are contradictory [40].

We describe the distribution of HB in the state of Paraná using the reported data and emphasize its recent reemergence. Improving our understanding of the epidemiology of this disease can help in the formulation of plans for regional and possibly national strategies to control HB.

References

1. Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis*. 2006;6(2):91–9. 10.1016/S1473-3099(06)70382-6 . [\[PubMed\]](#) [\[CrossRef\]](#)
2. Dean AS, Crump L, Greter H, Hattendorf J, Schelling E, Zinsstag J. Clinical manifestations of human brucellosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(12):e1929 10.1371/journal.pntd.0001929 ; PubMed Central PMCID: PMC3516581. [\[PMC free article\]](#)[\[PubMed\]](#) [\[CrossRef\]](#)
3. Buzgan T, Karahocagil MK, Irmak H, Baran AI, Karsen H, Evirgen O, et al. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature. *Int J Infect Dis*. 2010;14(6):e469–78. 10.1016/j.ijid.2009.06.031 . [\[PubMed\]](#) [\[CrossRef\]](#)
4. Roth F, Zinsstag J, Orkhon D, Chimed-Ochir G, Hutton G, Cosivi O, et al. Human health benefits from livestock vaccination for brucellosis: case study. *Bull World Health Organ*. 2003;81(12):867–76. ; PubMed Central PMCID: PMC3516581. [\[PMC free article\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. McDermott J, Grace D, Zinsstag J. Economics of brucellosis impact and control in low-income countries. *Rev Sci Tech*. 2013;32(1):249–61. . [\[PubMed\]](#)
6. Borba MR, Stevenson MA, Goncalves VS, Neto JS, Ferreira F, Amaku M, et al. Prevalence and risk-mapping of bovine brucellosis in Maranhao State, Brazil. *Prev Vet Med*. 2013;110(2):169–76. 10.1016/j.prevetmed.2012.11.013 . [\[PubMed\]](#) [\[CrossRef\]](#)
7. Keid LB, Chiebao DP, Batinga MCA, Faita T, Diniz JA, Oliveira T, et al. *Brucella canis* infection in dogs from commercial breeding kennels in Brazil. *Transbound Emerg Dis*. 2017;64(3):691–7. Epub 2017/03/16. 10.1111/tbed.12632 . [\[PubMed\]](#) [\[CrossRef\]](#)
8. Dos Santos LS, Sa JC, Dos Santos Ribeiro DL, Chaves NP, da Silva Mol JP, Santos RL, et al. Detection of *Brucella* sp. infection through serological, microbiological, and molecular methods applied to buffaloes in Maranhao State, Brazil. *Trop Anim Health Prod*. 2017;49(4):675–9. Epub 2017/02/20. 10.1007/s11250-017-1238-3 . [\[PubMed\]](#) [\[CrossRef\]](#)
9. Costa LF, Pessoa MS, Guimaraes LB, Faria AK, Morao RP, Mol JP, et al. Serologic and molecular evidence of *Brucella ovis* infection in ovine and caprine flocks in the State of Minas Gerais, Brazil. *BMC Res Notes*. 2016;9:190 Epub 2016/03/29. 10.1186/s13104-016-1998-2 ; PubMed Central PMCID: PMC4808293. [\[PMC free article\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[CrossRef\]](#)
10. Lilenbaum W, de Souza GN, Ristow P, Moreira MC, Fraguas S, Cardoso Vda S, et al. A serological study on *Brucella abortus*, caprine arthritis-encephalitis virus and *Leptospira* in

- dairy goats in Rio de Janeiro, Brazil. *Vet J.* 2007;173(2):408–12. Epub 2006/02/04. 10.1016/j.tvjl.2005.12.003 . [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]
11. Mathias LA, Girio RJ, Duarte JM. Serosurvey for antibodies against *Brucella abortus* and *Leptospira interrogans* in pampas deer from Brazil. *J Wildl Dis.* 1999;35(1):112–4. Epub 1999/03/12. 10.7589/0090-3558-35.1.112 . [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]
12. Portugal MA, Nesti A, Giorgi W, Franca EN, de Oliveira BS Jr. [Brucellosis in equins caused by *Brucella suis*]. *Arq Inst Biol (Sao Paulo).* 1971;38(3):125–32. . [[PubMed](#)]
13. Sanchez-Sarmiento AM, Carvalho VL, Sacristan C, Groch KR, Ressio RA, Fernandes N, et al. Brucellosis in a Clymene dolphin (*Stenella clymene*) stranded in Brazil. *Transbound Emerg Dis.* 2018;65(1):289–91. Epub 2017/08/18. 10.1111/tbed.12696 . [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]
14. Meirelles-Bartoli RB, Mathias LA, Samartino LE. Brucellosis due to *Brucella suis* in a swine herd associated with a human clinical case in the State of Sao Paulo, Brazil. *Trop Anim Health Prod.* 2012;44(7):1575–9. 10.1007/s11250-012-0108-2 . [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]
15. Rodrigues AL, Silva SK, Pinto BL, Silva JB, Tupinambas U. Outbreak of laboratory-acquired *Brucella abortus* in Brazil: a case report. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2013;46(6):791–4. Epub 2014/01/30. 10.1590/0037-8682-0160-2013 . [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]
16. Garcia JL, Navarro IT. [Serologic survey for leptospirosis and brucellosis in patients from the rural area of Guaraci County, Parana State, Brazil]. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2001;34(3):301–2. . [[PubMed](#)]
17. Angel MO, Ristow P, Ko AI, Di-Lorenzo C. Serological trail of *Brucella* infection in an urban slum population in Brazil. *J Infect Dev Ctries.* 2012;6(9):675–9. Epub 2012/09/25. 10.3855/jidc.2347 ; PubMed Central PMCID: PMC3800144. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]
18. Pacheco G, de MM. [Human brucellosis in Brazil]. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1950;48:393–436. . [[PubMed](#)]
19. Souza AP, Moreira Filho DC, Favero M. [Brucellosis in cattle and in human consumers of milk]. *Rev Saude Publica.* 1977;11(2):238–47. . [[PubMed](#)]
20. Wiesmann E, Mosimann J, Drolshammer I, Eckert J, Marki H, Munzinger J, et al. [Study of Brazilian agricultural workers. A medico-socio-psychological study]. *Acta Trop.* 1975;32(1):1–36. Epub 1975/01/01. . [[PubMed](#)]
21. Tuon FF, Cerchiari N, Cequinel JC, Droppa EEH, Moreira SDR, Costa TP, et al. Guidelines for the management of human brucellosis in the State of Parana, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2017;50(4):458–64. Epub 2017/09/28. 10.1590/0037-8682-0319-2016 . [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]
22. Diaz R, Casanova A, Ariza J, Moriyon I. The Rose Bengal Test in human brucellosis: a neglected test for the diagnosis of a neglected disease. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5(4):e950 10.1371/journal.pntd.0000950 PubMed Central PMCID: PMC3079581. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]
23. Wang Y, Wang Z, Zhang Y, Bai L, Zhao Y, Liu C, et al. Polymerase chain reaction-based assays for the diagnosis of human brucellosis. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2014;13:31

10.1186/s12941-014-0031-7 ; PubMed Central PMCID: PMC4236518. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]

24. Probert WS, Schrader KN, Khuong NY, Bystrom SL, Graves MH. Real-time multiplex PCR assay for detection of *Brucella* spp., *B. abortus*, and *B. melitensis*. *J Clin Microbiol*. 2004;42(3):1290–3. Epub 2004/03/09. 10.1128/JCM.42.3.1290-1293.2004 ; PubMed Central PMCID: PMC4236518. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]

25. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas—Censo Populacional. 2012.

26. Lai S, Zhou H, Xiong W, Gilbert M, Huang Z, Yu J, et al. Changing Epidemiology of Human Brucellosis, China, 1955–2014. *Emerg Infect Dis*. 2017;23(2):184–94. Epub 2017/01/19. 10.3201/eid2302.151710 ; PubMed Central PMCID: PMC5324817. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]

27. Yacoub AA, Bakr S, Hameed AM, Al-Thamery AA, Fartoci MJ. Seroepidemiology of selected zoonotic infections in Basra region of Iraq. *East Mediterr Health J*. 2006;12(1–2):112–8. Epub 2006/10/14. . [[PubMed](#)]

28. Abdullayev R, Kracalik I, Ismayilova R, Ustun N, Talibzade A, Blackburn JK. Analyzing the spatial and temporal distribution of human brucellosis in Azerbaijan (1995–2009) using spatial and spatio-temporal statistics. *BMC Infect Dis*. 2012;12:185 10.1186/1471-2334-12-185 ; PubMed Central PMCID: PMC3482564. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]

29. Bonfoh B, Kasymbekov J, Durr S, Toktobaev N, Doherr MG, Schueth T, et al. Representative seroprevalences of brucellosis in humans and livestock in Kyrgyzstan. *Ecohealth*. 2012;9(2):132–8. 10.1007/s10393-011-0722-x ; PubMed Central PMCID: PMC3415613. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]

30. Dean AS, Bonfoh B, Kulo AE, Boukaya GA, Amidou M, Hattendorf J, et al. Epidemiology of brucellosis and q Fever in linked human and animal populations in northern togo. *PLoS One*. 2013;8(8):e71501 10.1371/journal.pone.0071501 ; PubMed Central PMCID: PMC3741174. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]

31. Dean AS, Crump L, Greter H, Schelling E, Zinsstag J. Global burden of human brucellosis: a systematic review of disease frequency. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(10):e1865 10.1371/journal.pntd.0001865 ; PubMed Central PMCID: PMC3493380. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]

32. Al Nakkas AF, Wright SG, Mustafa AS, Wilson S. Single-tube, nested PCR for the diagnosis of human brucellosis in Kuwait. *Ann Trop Med Parasitol*. 2002;96(4):397–403. 10.1179/000349802125001203 . [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]

33. Al-Attas RA, Al-Khalifa M, Al-Qurashi AR, Badawy M, Al-Gualy N. Evaluation of PCR, culture and serology for the diagnosis of acute human brucellosis. *Ann Saudi Med*. 2000;20(3–4):224–8. . [[PubMed](#)]

34. Al-Nakkas A, Mustafa AS, Wright SG. Large-scale evaluation of a single-tube nested PCR for the laboratory diagnosis of human brucellosis in Kuwait. *J Med Microbiol*. 2005;54(Pt 8):727–30. 10.1099/jmm.0.45772-0 . [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]

35. Araj GF, Lulu AR, Mustafa MY, Khateeb MI. Evaluation of ELISA in the diagnosis of acute and chronic brucellosis in human beings. *J Hyg (Lond)*. 1986;97(3):457–69. ; PubMed Central PMCID: PMC2082895. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]

36. Araj GF, Lulu AR, Saadah MA, Mousa AM, Strannegard IL, Shakir RA. Rapid diagnosis of central nervous system brucellosis by ELISA. *J Neuroimmunol.* 1986;12(3):173–82. . [\[PubMed\]](#)
37. Aranis JC, Oporto CJ, Espinoza M, Riedel KI, Perez CC, Garcia CP. [Usefulness of the determination of IgG and IgM antibodies by ELISA and immunocapture in a clinical series of human brucellosis]. *Rev Chilena Infectol.* 2008;25(2):116–21. doi: [/S0716-10182008000300006](#) . [\[PubMed\]](#)
38. Hasibi M, Jafari S, Mortazavi H, Asadollahi M, Esmaeeli Djavid G. Determination of the accuracy and optimal cut-off point for ELISA test in diagnosis of human brucellosis in Iran *Acta Med Iran.* 2013;51(10):687–92. . [\[PubMed\]](#)
39. Park SH, Lee YH, Chu H, Hwang SD, Hwang KJ, Choi HY, et al. Application of the microagglutination test for serologic diagnosis of human brucellosis. *Osong Public Health Res Perspect.* 2012;3(1):19–23. 10.1016/j.phrp.2012.01.003 ; PubMed Central PMCID: PMC3738686. [\[PMC free article\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[CrossRef\]](#)
40. Sohrabi M, Mohabati Mobarez A, Khoramabadi N, Hosseini Doust R, Behmanesh M. Efficient diagnosis and treatment follow-up of human brucellosis by a novel quantitative TaqMan real-time PCR assay: a human clinical survey. *J Clin Microbiol.* 2014;52(12):4239–43. 10.1128/JCM.01819-14 ; PubMed Central PMCID: PMC4313293. [\[PMC free article\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[CrossRef\]](#)

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao final deste estudo conclui-se que a brucelose humana vem ocupando posição de destaque no cenário estadual, nacional e mundial. A casuística do aumento de casos, em sua maioria, está relacionada ao consumo de leite não pasteurizado, exposição à bactéria em ambientes ocupacionais e acidentes vacinais, conforme relatados.

Observa-se que o aumento da incidência da BH no estado do Paraná está diretamente relacionado com o surto relatado em 2014. Dos 191 casos suspeitos, 90 foram confirmados, com comprometimento principal de homens, em sua maioria jovens que viviam em áreas rurais e estavam expostos a doença em ambiente ocupacional. Os principais sintomas foram mialgia, artralgia, dor de cabeça, febre, sudorese noturna e emagrecimento.

Verificou-se também que os testes sorológicos ELISA IgG e IgM auxiliam no diagnóstico clínico, quando associados ao histórico epidemiológico do paciente e ao teste de PCR, que pode ser útil quando os testes sorológicos são contraditórios.

Os casos presentes no estado estão disseminados em sua maioria na região oeste. Porém, apesar do cenário não ser favorável, o mais importante a salientar é que o número de casos entrou em declínio após a decisão de implementação da notificação compulsória da doença no ano de 2015, associada à vigilância ativa, juntamente com a educação e orientação sanitária realizadas pela Secretária Estadual de Saúde do Estado do Paraná (SESA-PR), demonstrando que a doença pode ser controlada e possivelmente erradicada com medidas preventivas eficientes.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Colombe S, Watanapalachaigoo E, Ekgatat M, Ko IA. Cross-sectional study of brucellosis and Q fever in Thailand among livestock in two districts at the Thai-Cambodian border, Sa Kaeo province. **One Health**.2018;6:37-40.
2. Pessegueiro P, Barata C, Correia J. Brucelose – uma revisão sistematizada. **Med Interna**. 2003;10:91-100.
3. Newcomb J. Economic impact of selected infectious diseases. **Cambridge (MA): Bio Economic Research Associates**. 2008.
4. Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human Brucellosis. **Lancet Infect Dis**. 2007;7:775-786
5. Deniz S, Baykam N, Celikbas A, Yilmaz MS, Guzel TC, Dokuzoguz B, Ergonul O. Screening Household Members of Acute Brucellosis Cases in Endemic Areas and Risk Factors for Brucellosis. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**. 2015;15(8):468-470.
6. Hyeda A, Sbardellotto F. Exposição acidental à vacina da brucelose. **Rev Bras Med Trab**. 2011;9(2):62-68.
7. Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. **Lancet Infect Dis**. 2006;6(2):91-99.
8. Carvalho MS, Barroso MR, Pinhal F, Mota TF. Brucelose, alguns aspectos epidemiológicos. **Medicina Int**. 1995;2(4):259-261.
9. Ministério da Saúde. Plano Nacional de Saúde: Orientações estratégicas para 2004- 2010. Lisboa: Direcção Geral de Saúde. 2004;2:1-218.
10. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose

Animal (PNCEBT). **Ministério da Agricultura**. 2017.

11. Secretária do Estado de Saúde do Paraná, Superintendência de Vigilância em Saúde, Centro Estadual de Vigilância Ambiental. Protocolo de Manejo Clínico e Vigilância em Saúde para Brucelose Humana no Estado do Paraná. SEVA – SEVS – CEVA. 2015.
12. Greenfield RA, Drevets DA, Machado LJ, Voskuhl GW, Cornea P, Bronze MS. Bacterial Pathogens as Biological Weapons and Agents of Bioterrorism. *Am J Med Sci*. 2002;6(323):299-315.
13. Leong NK, Chow ST, Wong SP, Hamzah HS, Ahmad N, Ching CC. Case Report: Outbreak of Human Brucellosis from Consumption of Raw Goats Milk in Penang, Malaysia. *Am J Trop Med Hyg*. 2015;93(3):539-541.
14. Mesner O, Riesenberk K, Biliar N, Borstein E, Bouhnik L, Peled N eone Yagupsky P. The Many Faces of Human to Human transmission of Brucellosis: Congenital Infection and outbreak of nosocomial disease related to an unrecognized clinical case. *Clinical Infectious Diseases*. 2007;45(12):135-140 .
15. ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control. Brucellosis. Annual epidemiological report. 2014, 2015, 2016.
16. Coura, José Rodrigues (2 ed). **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2013.
17. Cardoso TCS, Costa CML. **A Brucelose no Brasil sob o enfoque da saúde pública**. 2011. (Monografia) Pós-Graduação em Vigilância Sanitária pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC-GO/IFAR.
18. CONBRAVET. Fatores de risco associados à brucelose em médicos veterinários com predisposição ocupacional no Estado de Mato Grosso, Brasil. *Anais do 35º*

Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária – Gramado – RS. 2008, 1-6.

19. Germano, Pedro Manuel Leal (3 ed). **Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidades das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos.** São Paulo, Livraria Varela, 2003.

20. Soares COPC, et al. Prevalência da Brucella spp em humanos. **Rev Lat Am Enfermagem.** 2015;23(5): 919-926.

21. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1339, de 18 de novembro de 1999. Instituir a Lista de Doenças relacionadas ao Trabalho. Brasília, 1999.

22. Moreno E, Stackebrandt E, Dorsch M, Wolters J, Busch M, Mayer H. Brucella abortus 16S rRNA and lipid A reveal a phylogenetic relationship with members of the alpha2 subdivision of the class Proteobacteria. **Journal Bacteriol.** 1990;172(7):3569-76.

23. BD. **Instruções de utilização – meios em placas prontos para usar.** BD Brucella Agar with 5% Horse Blood. 2003.

23. Yagupsky P. Detection of brucellae in blood cultures. **J Clin Microbiol.** 1999; 37(11):3437- 3442.

24. Pappas G, Akritidis N, Bosilkoski M, Tsianos E. Brucellosis. **N Engl J Med.** 2005; 352:2325-36.

25. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. **Medical Microbiology.** 5th ed. Elsevier, 2005.

26. Figueiredo P, Ficht TA, Rice-Ficht A, Rossetti CA, Adams LG. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of Brucella-host interactions. **Am J Pathol.** 2015;185(6):1505-17.

27. Martirosyan A, Gorvel JP. Brucella evasion of adaptive immunity. **Future**

Microbiol. 2013;8:147–154.

28. Elsa I, Roldán C, Flores AF, Dall’Agnol M, Freer E, Cedillo L, Dornad J, Girón JA. Adherence of *Brucella* to human epithelial cells and macrophages is mediated by sialic acid residues. **Cell Microbiol.** 2004;6:435–445.

29. Pizarro CJ, Moreno E, Sanguedolce V, Mege JL, Gorvel JP. Virulent *Brucella abortus* prevents lysosome fusion and is distributed within autophagosome-like compartments. **Infect Immun.** 1998;66:2387–2392.

30. Rossetti CA, Drake KL, Adams LG. Transcriptome analysis of HeLa cells response to *Brucella melitensis* infection: a molecular approach to understand the role of the mucosal epithelium in the onset of the *Brucella* pathogenesis. **Microbe Infect.** 2012;14:756-767.

31. Grasso LMPS. **O combate à brucelose bovina.** (Dissertação de Mestrado)1998. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

32. Tuon FF, Cerchiari N, Cequinel CJ, Droppa HEE, Moreira RDS, Costa PT, Navarro BPA, Handar MA, Souza NM e Brucellosis Wordgroup. Guidelines for the management of human brucellosis in the State of Paraná, Brazil. **Rev Soc Bra Med Trop.** 2017;50(4):458-464.

33. Vierucci A, Varone D. Brucellar infection in an infant from maternal contagion. **Riv Clin Pediatr.** 1963;71:235–41.

34. Palanduz A, Palanduz S, Guler K, Guler N. Brucellosis in a mother and her young infant: probable transmission by breast milk. **Int J Infect Dis.** 200;4(1):55-6.

35. Akcakus M, Esel D, Cetin N, Kisaarslan AP, Kurtoglu S. *Brucella melitensis* in blood cultures of two newborns due to exchange transfusion. **Turk J Pediatr.** 2005;47(3):272–4.

36. Ertem M, Kurekci AE, Aysev D, Unal E, Ikinciogullari A. Brucellosis transmitted by

bone marrow transplantation. **Bone Marrow Transplant.** 2000;26(2):225– 226.

37. Ruben B, Band JD, Wong P, Colville J. Person-to-person transmission of *Brucella melitensis*. **Lancet.** 1991;337(8732):14–5.

38. Yumuk Z, O’Callaghan D. Brucellosis in Turkey an overview. **Int J Infect Dis.** 2012;16(4) e228–e235.

39. Conceição MD, Gouvêa MHA, Toledo MP, Zanóbia FR, Reis DD. **Brucelose bovina.** 2005 (Projeto de Extensão) Vacinação de bezerra entre 3 e 8 meses de idade no município de Santa Cruz da Conceição.

40. Aygen B, Doğanay M, Sümerkan B, Yıldız O, Kayabaş Ü. Clinical Manifestations, Complications and Treatment of Brucellosis: a Retrospective Evaluation of 480 Patients. **Med Mal Infect.** 2002;32(9):485–493.

41. Cunha BA, Hage JE, Nouri Y. Recurrent Fever of Unknown Origin (FUO): Aseptic Meningitis, Hepatosplenomegaly, Pericarditis and Double Quotidian Fever Due to Juvenile Rheumatoid Arthritis (JRA). **Heart Lung.** 2012;41(2)177-180.

42. Mantur BG, Amarnath SK, Shinde RS. Review of Clinical and Laboratory Features of Human *Brucellosis* Indian. **J Med Microbiol.** 2007;25(3):188-202.

43. Buzgan T, Karahocagil MK, Irmak H, Baran AL, Karsen H, et al. Clinical Manifestations and Complications in 1028 cases of brucellosis: a Retrospective Evaluation and review of the literature. **Int J Infect Dis.** 2010;14:(6) e469–e478.

44. Andriopoulos P, Tsironi M, Deftereos S, Aerossopos A, Assimakopoulos G. Acute Brucellosis: Presentations, Diagnosis and Treatment of 144 cases. **Int J Infect Dis.** 2007;11(1):52-57.

45. Ariza J, Corredoira J, Pallares R, Viladrich PF, Rufi G, Pujol M, Gudiol F. of and risk factors for relapse of brucellosis in humans. **Clin Infect Dis.** 1995;20(5):1241-1249.

46. Solera J, Martinez-Alfaro E, Espinoza A, Castillejos ML, Geijo P, Rodríguez-

Zapata M. Multivariate model for predicting relapse in human brucellosis. **J Infect Dis.** 1998;36(1):85-92.

47. Ariza J, Bosch J, Gudiol F et al. Relevance of in vitro antimicrobial susceptibility of *Brucella melitensis* to relapse rate in human brucellosis. **Antimicrob Agents Chemother.** 1986;30(6):958-960.

Pessegueiro P, Barata C, Correia J. Brucelose: uma revisão sistematizada. **Med Interna.** 2003;10(2):91-100.

48. Kilic UA, Metan G e Alp E. Clinical Presentations and Diagnosis of Brucellosis. **Recent Patents on Anti- Infective Drug Discovery.** 2013;8(1)34-41.

49. Shehabi AK, Shakir M, El-Khateeb H, Qubain H, Fararjeh N, Shamat AR. Diagnosis and treatment of 106 cases of human brucellosis. **J Infect.** 1990;20(1):5-10.

50. Yousefi-Nooraie R, Mortaz-Hejri S, Mehrani M, Sadeghipour P. Antibiotics for treating human brucellosis. **Cochrane Infectious Diseases Group.** 2012;10.

51. World Health Organization. Operational research in tropical and other communicable diseases: final report summaries 2001-2002. Cairo: **WHO**; 2004.

52. Tierney Junior LM, Mcphee SJ, Papadakis MA. Diagnóstico e Tratamento. São Paulo. **Atheneu.** 2001;1506.

53. SOLIS, García del Pozo; SOLERA, J. Systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials in the treatment of human brucellosis. **PLoS One.** 2012; 7(2):e32090.

54. Fontes CAM, Valente LC, Pereira MLC, Mota M A, Nakaoka VY, Silva E, Kashiwabara TGB. Brucelose: uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research (BJSCR).** 2014;6(3)53-56

55. Heymann DL. **El control de las enfermedades transmisibles**. 18. ed. Washington, D. C:OPS; 2005;39-42.

56. Lawinsky M L J, Ohara P M, Elkhoury M R, Faria N C, Cavalcante K R L J. Estado da arte da brucelose em humanos. **Rev Pan-Amaz Saude** 2010;1(4):75-84.

