



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO – UEMA
MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA SANITÁRIA ANIMAL - MDSA**

ALEXANDRA EVANGELISTA FERNANDES

**OCORRÊNCIA DE *Brucella abortus* EM TRABALHADORES DE FRIGORÍFICOS
NO ESTADO DO MARANHÃO**

São Luís
2018

ALEXANDRA EVANGELISTA FERNANDES

**OCORRÊNCIA DE *Brucella abortus* EM TRABALHADORES DE FRIGORÍFICOS
NO ESTADO DO MARANHÃO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Animal da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Defesa Sanitária Animal.

Orientador: Prof. DSc. Hamilton Pereira Santos

Coorientadora: Prof^ª. DSc. Nancyleni P. C. Bezerra

São Luís

2018

Fernandes, Alexandra Evangelista.

Ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no estado do Maranhão / Alexandra Evangelista Fernandes. – São Luís, 2018.

61.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Defesa Sanitária Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2018.

Orientador: Prof. Dr. Hamilton Pereira Santos.

1. Brucellose humana. 2. Zoonoses. 3. Doenças ocupacionais.

ALEXANDRA EVANGELISTA FERNANDES

**OCORRÊNCIA DE *Brucella abortus* EM TRABALHADORES DE FRIGORÍFICOS
NO ESTADO DO MARANHÃO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Animal da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Defesa Sanitária Animal.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. DSc. Hamilton Pereira Santos
Universidade Estadual do Maranhão
Orientador

Prof. DSc. Danilo Cutrim Bezerra
Universidade Estadual do Maranhão
1º Examinador

Prof. DSc. Daniel Praseres Chaves
Universidade Estadual do Maranhão
2º Examinador

Dedico esta pesquisa a quem me proporcionou fazê-la, **Deus!** A minha família, em especial ao meu pai, José Fernandes de Sousa (***in memoriam***). A todos que trabalham em Abatedouros Frigoríficos e na Área da Saúde Pública.

AGRADECIMENTOS

A Deus, o verdadeiro autor da vida.

A minha família, pelo apoio e incentivo.

Ao Secretário Municipal de Saúde de Bacabeira – MA, Jefferson Silva Calvet, por sua compreensão, apoio e paciência sempre que precisei me ausentar do trabalho para a realização do mestrado.

Aos funcionários e amigos da Vigilância Sanitária Municipal de Bacabeira - MA, pela compreensão e apoio sempre que precisei me ausentar do trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Hamilton Pereira Santos, por me acolher como orientanda, por sua paciência e disponibilidade.

A minha coorientadora Nancyleni P.Chaves Bezerra por seu empenho e presteza em ajudar-me neste trabalho.

A Secretária do Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Animal, Conceição Nascimento, por sua atenção e presteza.

Ao Laboratório Cernitas, nas pessoas de Dr. Daniel Praseres Chaves e Dra. Analy Cavalcante, pela parceria e solicitude.

Aos Médicos Veterinários Responsáveis Técnicos pelos Abatedouros Frigoríficos: Larissa Jayne Sameneses de Oliveira, Hélio Fernandes Alves Monteles, Miterlandes Amaral Pinheiro, Raimundo de Oliveira Filho e Ênio Oliveira Ferreira de Sousa, pela solicitude e apoio.

A minha amiga e funcionária do Serviço de Inspeção Municipal de São Luís, a Médica Veterinária Hilmanara Tavares da Silva, por sua solicitude, apoio e incentivo.

A Técnica de Laboratório que fez as coletas humanas: Rosa Nália Vale Cardoso, pela sua disposição sempre que solicitada.

Ao responsável pelo Laboratório de Doenças Infecciosas do Curso de Medicina Veterinária: Diego Moraes Soares, por sua solicitude e disposição em ajudar-me na realização de testes e por suas orientações e aos estagiários do Laboratório: Wendel Adelino Policarpo, Leandro Henrique Veiga de Sousa e Raimunda Deusilene Barreira Porto, por contribuírem na realização de testes.

Aos amigos de turma do mestrado, em especial Fernanda Albuquerque, por partilharem experiências e conhecimentos e por tornarem essa caminhada de dois anos mais leve e alegre.

RESUMO

O objetivo do estudo foi determinar a ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de abatedouros frigoríficos no estado do Maranhão. Para isso, foram convidados a participarem voluntariamente 108 funcionários de cinco frigoríficos ligados diretamente à atividade de abate de bovinos. A coleta das amostras de sangue foi realizada pela punção da veia cefálica, conduzida por uma técnica de laboratório. Anteriormente à coleta, cada trabalhador respondeu a um questionário epidemiológico para estudar possíveis fatores de risco associados à brucelose nestes profissionais. O diagnóstico sorológico de triagem para detecção de anticorpos anti-*Brucella abortus* utilizado foi o Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), apresentando quatro amostras reagentes (3,70%/108), as quais foram submetidas simultaneamente aos testes confirmatórios Soroaglutinação Lenta em Tubos e 2-Mercaptoetanol, sendo as quatro amostras não reagentes. Dentre os fatores de risco avaliados, o “consumo de vegetais crus” apresentou significância estatística ($P < 0,05$) associada à brucelose. Não foram identificados resultados positivos para *B. abortus* nas 108 amostras de funcionários de frigoríficos abatedouros avaliados. Porém, como a brucelose é endêmica em rebanhos bovinos no estado do Maranhão e tendo em vista todo o processo de trabalho desempenhado em frigoríficos, há grandes possibilidades dessa categoria de profissionais se infectarem.

Palavras-chave: Brucelose Humana; Zoonoses; Doenças Ocupacionais. Maranhão.

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the occurrence of *Brucella abortus* in slaughterhouse workers in the state of Maranhão. For this purpose, 108 employees from five slaughterhouses directly involved in the slaughtering of cattle were invited to participate voluntarily. The collection of blood samples was performed by the cephalic vein puncture, conducted by a laboratory technique. Prior to the collection, each worker answered an epidemiological questionnaire to study possible risk factors associated with brucellosis in these professionals. The serological diagnosis of screening for anti-*Brucella abortus* antibodies used was Acidified Buffered Antigen (AAT), presenting four reagent samples (3.70% / 108), which were submitted simultaneously to the confirmatory tests. Slow Soro-agglutination in Tubes and 2-Mercaptoethanol, the four samples being non-reactive. Among the risk factors evaluated, the "consumption of raw vegetables" presented statistical significance ($P < 0.05$) associated with brucellosis. No positive results were identified for *B. abortus* in the 108 samples from slaughterhouse employees evaluated. However, since brucellosis is endemic in cattle herds in the state of Maranhão and considering the entire work process performed in slaughterhouses, there are great possibilities for this category of professionals to become infected.

Keywords: Human Brucellosis; Zoonoses; Occupational Diseases. Maranhão.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Quantitativo de amostras séricas de trabalhadores amostrados por frigorífico,2017.....	34
Tabela 2.	Quantitativo de funcionários reagentes ao teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) de acordo com o abatedouro frigorífico, sexo, idade, tempo e setor de trabalho, 2017.....	36
Tabela 3.	Análise univariada dos fatores de risco associados à infecção por <i>Brucella</i> em funcionários reagentes ao AAT em abatedouros frigoríficos no estado do Maranhão, 2017.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAT	Antígeno Acidificado Tamponado
AGED	Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
ELISA	Imunoadsorção Enzimática
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FC	Fixação de Complemento
FPA	Teste de Polarização de Fluorescência
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC 95%	Intervalo com Confiabilidade de 95%
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IN	Instrução Normativa
LER	Lesões por Esforços Repetitivos
MA	Estado do Maranhão
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MAT	Microaglutinação
MS	Ministério da Saúde
OIE	Organização Mundial de saúde Animal
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em Cadeia pela Polimerase
PNCEBT	Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose
RPM	Rotações por Minuto
RT	Responsável Técnico
SAL	Teste de Soroaglutinação Lenta em Tubos
SDA	Secretaria de Defesa Agropecuária
SIE	Serviço de Inspeção Estadual
SIH	Sistema de Informações Hospitalares
SIM	Serviço de Inspeção Municipal
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UEMA	Universidade Estadual do Maranhão

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
<	Menor que
≥	Maior ou igual
®	Marca registrada
mg	Miligrama
ml	Mililitros
mm	Milímetro
n	Numero amostral
°C	Grau Celsio
OR	Odds Ration
p*	Significância estatística
pH	Potencial Hidrogeniônico
x	Veze (multiplicação)
μl	Microlitro
μm	Micrômetro

SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	14
1.1	Referências.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	Etiologia.....	19
2.2	Epidemiologia.....	20
2.3	Transmissão e Patogenia.....	20
2.4	Sinais Clínicos em Humanos.....	21
2.5	Diagnóstico.....	22
2.6	Tratamento em Humanos.....	24
2.7	Profilaxia.....	24
2.8	Referências.....	25
3	ARTIGO CIENTÍFICO.....	31
	INTRODUÇÃO.....	33
	MATERIAL E MÉTODOS.....	34
	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
	CONCLUSÃO.....	39
	REFERÊNCIAS.....	40
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	44
	APÊNDICES.....	45
	ANEXO.....	51

CAPÍTULO 1: Considerações Iniciais

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O Brasil, destaque no agronegócio mundial, apresenta um rebanho bovino de 218,23 milhões de cabeças e rebanho bubalino de 1,37 milhão de cabeças (IBGE, 2016a), sendo o estado do Maranhão detentor de 7.846,904 bovídeos (7.758,048 bovinos e 88.856 bubalinos), de acordo com dados fornecidos pela Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão - AGED (MARANHÃO, 2018), distribuídos em uma área de 331.936,948 Km² (IBGE, 2016b). A indústria frigorífica e o complexo de carnes projetaram o país como um dos principais exportadores mundiais de produtos de origem animal. No terceiro trimestre do ano de 2017 foram abatidos 7,98 milhões de bovinos, representando um aumento de 9,0% em relação ao mesmo período do ano anterior (IBGE, 2016a).

Considerando esse destaque e as exigências com ele advindas, foi aprovado no ano de 2004 o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal - PNCEBT, pois houve a necessidade de padronizar e garantir a qualidade dos instrumentos e das ações profiláticas, de diagnóstico, de saneamento de rebanhos e de vigilância sanitária ativa, relacionadas à brucelose e tuberculose bovinas, além de definir o papel dos órgãos públicos de defesa e inspeção sanitária animal e sua integração com os pecuaristas, com instituições de ensino ou pesquisa, com médicos veterinários que atuam no setor privado e com laboratórios não pertencentes à rede do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 2009).

Nesse contexto, cabe a definição de zoonoses, que são enfermidades transmissíveis, comuns ao homem e animais e que estão divididas em dois grupos onde, no primeiro grupo, os animais têm papel fundamental na presença da infecção na natureza, sendo o homem um hospedeiro acidental. Já no segundo grupo, tanto os animais como o homem, são infectados a partir das mesmas fontes de contaminação, como por exemplo, o solo, a água, animais invertebrados e plantas, contudo, os animais não apresentam papel essencial no ciclo de vida do agente etiológico, mas podem contribuir em graus diversificados na distribuição e transmissão real de infecções (ACHA; SZYFRES, 2001).

Estima-se que 61% do geral de patógenos humanos sejam zoonóticos e que estes representam 75% de todos os patógenos emergentes relatados na última década. Estes agentes zoonóticos podem ser bactérias, vírus, fungos ou outro agente de doença transmissível (WHO, 2012a).

Há registros de mais de 200 tipos de zoonoses transmissíveis ao homem, porém, ainda existem diversas dificuldades em relação à identificação das infecções, pelo fato destas

poderem ser facilmente confundíveis com outras enfermidades, além das vias de contaminação e também do registro e subnotificação de casos positivos (WHO, 2012b).

Segundo o Ministério do Trabalho e Emprego (MTE, 2004), os funcionários de frigoríficos e de empresas de processamento de carnes, em função dos meios de produção neles realizados, estão submetidos a uma grande variedade de riscos que podem comprometer a sua saúde e segurança. Na rotina de trabalho destes estabelecimentos, verificam-se vários riscos, como o químico, o físico, o biológico, o ergonômico e o de acidentes. E em frigoríficos, isso ocorre desde a chegada dos animais até a expedição dos produtos, pois existe o contato direto e por longo tempo com sangue, carnes, vísceras, fluidos e secreções de animais potencialmente contaminados (MARRA et al., 2013).

A brucelose em humanos, doença zoonótica, chama a atenção dos sistemas de saúde mundialmente por ser emergente e por seu agente possuir grande potencial para o bioterrorismo. O Brasil ainda não possui uma rede estruturada na Saúde Pública para o diagnóstico da brucelose em humanos (LAWINSKY et al., 2011). Os testes utilizados são os mesmos utilizados para a detecção em animais e estão especificados no PNCEBT (BRASIL, 2004).

Os agentes etiológicos das doenças zoonóticas ocupacionais são exemplos de riscos biológicos classificados em quatro tipos, segundo as classes de risco, tendo como base vários critérios, dos quais se destacam: (i) a gravidade da infecção que causa; (ii) a virulência; (iii) a patogenicidade; (iv) a dose infectante; (v) o modo de transmissão; (vi) a estabilidade do agente; (vii) a concentração e o volume; (viii) a origem do material patogênico; (ix) a disponibilidade de medidas profiláticas e de tratamento eficaz; (x) a resistência a drogas; (xi) a endemicidade; (xii) e, a capacidade de disseminação no meio ambiente (DEUTZ et al., 2005). A importância dessa classificação está centrada nos aspectos relacionados à determinação de medidas a serem tomadas para a contenção e o controle dos riscos relacionados (CDC, 2009). A classe 1 é a de menor risco e a classe 4 a de maior (MARRA et al., 2013).

Os agentes de classe 3, por exemplo, provocam infecções graves no homem e nos animais, podendo propagar-se de indivíduo para indivíduo por meio de aerossóis, pelas vias respiratórias. *Brucella*, *Coxiella burnetii*, Vírus Nipah e *Mycobacterium bovis* são integrantes dessa classe (MARRA et al., 2013).

As informações da ocorrência de brucelose em humanos são escassas, mas mesmo assim, há casos confirmados por meio de estudos soropidemiológicos realizados em diversas áreas do país e em diferentes grupos ocupacionais como funcionários de abatedouros, vaqueiros, fazendeiros, médicos veterinários, considerando ainda os fatores de risco envolvidos (TENÓRIO, 2008). O Ministério da Saúde (MS) coloca esta enfermidade como doença de

notificação obrigatória somente na vigência de surtos, ou seja, em casos isolados a notificação não é obrigatória (BRASIL, 2010).

Esse trabalho surgiu da vivência em estabelecimentos que abatem bovinos e da necessidade de obter dados acerca da brucelose nessa classe de profissionais. Por meio desta pesquisa, pretende-se alcançar os seguintes objetivos: (i) determinar a ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no estado do Maranhão; (ii) identificar possíveis fatores de risco associados à *Brucella abortus* em funcionários de frigoríficos no estado do Maranhão; (iii) colaborar com a saúde ocupacional e pública e incentivar mudanças de comportamento na rotina dos trabalhadores de frigoríficos após os conhecimentos adquiridos.

Este trabalho de pesquisa se estrutura em quatro capítulos, onde o primeiro refere-se às considerações iniciais; no segundo encontra-se a fundamentação teórica, que trata da brucelose em trabalhadores de frigoríficos no estado do Maranhão; no terceiro é apresentado um artigo, resultado desta pesquisa, intitulado “Ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no estado do Maranhão”, de acordo com as normas da Revista do Instituto Adolfo Lutz (Anexo 1); e no quarto capítulo são apresentadas as considerações finais deste trabalho.

1.1 Referências

ACHA, P. N.; SZYFRES B. **Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales**. Organización Panamericana de la Salud, 2001, v. 1, 398 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 6, de 8 de janeiro de 2004**, p 5. Brasília, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças Infecciosas e Parasitárias: Guia de Bolso**/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 8. ed. rev. p. 106. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **Biosafety in microbiological and biomedical laboratories**. Atlanta: CDC; 2009.

DEUTZ, A.; FUCHS, K.; AUER, H.; KERBL, U.; ASPOCK, H.; KOFER, J. **Toxocara-infestations in Austria: a study on the risk of infection of farmers, slaughterhouse staff, hunters and veterinarians.** Parasitol Research, 2005.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2016 a. In: Giro do boi, 29 set 2017 Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/ibge-rebanho-de-bovinos-tinha-21823-milhoes-de-cabecas-em-2016/>> Acesso em: 21 fev 2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2016 b. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.com.br/geociencias-novoportal/organizacao-do-territorio/estrutura-territorial/15761-areas-dos-municipios.html?&t=destaques>> Acesso em: 21 fev 2018.

LAWINSKY, M.L.J.; OHARA, P.M.; ELKHOURY, M.R.; FARIA, N. C.; CAVAL-CANTE, K.R.L.J. **Estado da Arte da Brucelose em Humanos.** Revista Pan-Amazônica de Saúde (online), v.1, n.4, pp.75-84, ISSN 2176-6223, 2011.

MARANHÃO. Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão. Setor de Epidemiologia e Estatística, Coordenadoria de Defesa Animal. Banco de dados. São Luís, 20 fev 2018.

MARRA, G. C.; SOUZA, L. H. de; CARDOSO, T. A. de O. **Biossegurança no trabalho em frigoríficos: da margem do lucro à margem da segurança.** Ciência saúde coletiva, vol.18, n.11, Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-832013001100016&script=sci_arttext>. Acesso em: 17 set. de 2015.

MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO. Departamento de Segurança e Saúde no Trabalho. **Nota Técnica: Medidas para Controle de Riscos Ocupacionais na Indústria de Abate e Processamento de Carnes.** Brasília: MTE, 2004. 27p.

WHO – World Health Organization. **Zoonoses and veterinary public health: The control of neglected zoonotic diseases.** 2012a Disponível em: <http://www.who.int/zoonoses/control_neglected_zoonoses/en/>. Acesso em: 11 mai. 2016.

WHO – World Health Organization. **Zoonoses and veterinary public health: Diseases.** 2012b Disponível em: <<http://www.who.int/zoonoses/diseases/en/>>. Acesso em: 11 mai. 2016.

TENÓRIO, T.G.S.; MELO, L.E.H.; MOTA,R.A.; FERNANDES, L.M.; SÁ,L.M.; SOUTO,R.J.C.,et al. **Pesquisa de Fatores de Risco para a Brucelose Humana Associados à Presença de Brucelose Bovina no Município de Correntes, Estado de Pernambuco, Brasil.** Arq. Inst. Biol. 2008. Out-dez; 75(4): 415-21.

CAPÍTULO 2: Revisão de Literatura
2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Etiologia

As bactérias do gênero *Brucella*, responsáveis pela brucelose, são intracelular facultativas, representadas por bacilos curtos ou em forma de cocos, medindo 0,5 – 07 x 0,6 – 1,55 µm, gram-negativos, não capsulados, imóveis (BEER, 1998; BRASIL, 2006). Os bacilos são aeróbios, tendo ótimo crescimento à temperatura de 37°C mas, podendo crescer em temperaturas que variam entre 20°C a 40°C e pH entre 6,6 a 7,4 (BEER, 1998).

As espécies mais conhecidas e suas predileções por hospedeiros são: *Brucella melitensis* (caprinos, ovinos e camelos), *B. suis* (suínos e javalis), *B. canis* (cães), *B. abortus* (bovinos e bubalinos), *B. neotomae* (ratos do deserto), *B. ovis* (ovinos), sendo as quatro primeiras de importância clínica para o homem, que é um hospedeiro acidental (CORBEL, 2006; MORIYÓN, 2006; OSTERMAN, 2006). As *Brucellas* são subdivididas em sete biovars ou biotipos para *B. abortus* (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 9), três para *B. melitensis* (1, 2 e 3) e cinco para *B. suis* (1, 2, 3, 4 e 5) (MORENO et al., 2002; FOSTER et al., 2007; SCHOLZ et al., 2008).

No ano de 1994 foram isoladas duas novas espécies em mamíferos marinhos: a *B. ceti* e a *B. pinnipedialis* (BRASIL, 2006; MARQUAT et al., 2009). No ano 2000, na República Tcheca, foi encontrada uma nova espécie em amostras de fígado de ratazanas, a *B. microti* e em 2005, a *B. inopinata* em uma mulher de 71 anos, a partir de uma prótese de seio (SCHOLZ et al., 2008).

Ressalta-se que os biovars ou biotipos são diferenciados por testes como a sorotipagem, tipificação de fagos, sensibilidade a corantes, necessidade de CO₂, produção de H₂S e também das propriedades metabólicas (ALTON et al., 1988; PAJUABA, 2006; OIE, 2009).

As *Brucellas* são divididas em dois grupos: lisas e rugosas. As *B. abortus*, *melitensis* e *suis* apresentam-se como colônias do tipo lisa, mais virulenta, porém, quando evoluem para a forma rugosa podem não mais ser patogênicas. As *B. ovis* e *canis* apresentam-se apenas na forma rugosa (BRASIL, 2006). A espécie mais patogênica para o ser humano é a *B. melitensis*, contudo, ainda não foi isolada no Brasil (MATHIAS, 2008; SANTA CATARINA, 2012). A *B. abortus* é a que mais infecta pessoas no Brasil, justificando-se pela representatividade do rebanho nacional, da produção leiteira e da contaminação ambiental (CORBEL, 2006; MATHIAS, 2008).

Para Teixeira (2007), a brucelose está disseminada pelos rebanhos bovinos do estado do Maranhão com prevalência de 5,25%, de um total de 419 amostras analisadas e

também está ocorrendo em funcionários de frigoríficos com prevalência de 10,17%, de um total de 59 amostras avaliadas.

2.2 Epidemiologia

No Brasil, de acordo com o Sistema de Informações Hospitalares do Sistema Único de Saúde – SIH/SUS, do MS, de janeiro de 2016 a setembro de 2017, houve 45 internações associadas à brucelose, sendo 11 na Região Norte, 08 na Região Nordeste, 08 na Região Sudeste, 10 na Região Sul e 08 na Região Centro-Oeste, não ocorrendo mortes (BRASIL, 2017).

Gonçalves et al. (2006) e Kassiri (2013) observaram que a incidência da doença em humanos é maior nos meses de abril a julho, o que está diretamente relacionado com o aumento de nascimento de animais nesse período, com consequente elevação do manuseio de animais sem a devida proteção (*uso* de equipamentos de proteção individual - EPI's), além de viabilizar o consumo de leite '*in natura*' e de seus derivados, devido a maior produção.

Também se observou que a incidência é maior em pessoas de faixa etária de 20 a 40 anos de idade, principalmente do sexo masculino, o que é explicado devido ao predomínio do homem nas atividades de vaqueiros, magarefes, entre outras (SCHEIN et al.,2004; ALMEIDA, 2009; NASSIR, 2013). A ocorrência é maior em indivíduos com menor grau de escolaridade, pois desconhecem sobre a transmissão da doença e geralmente são os mais relutantes às medidas de prevenção e profilaxia (KASSIRI, 2013).

2.3 Transmissão e Patogenia

A *Brucella* ao entrar no organismo do hospedeiro suscetível, é fagocitada por leucócitos polimorfonucleares, mas, no entanto, frequentemente sobrevive e multiplica-se nessas células do sistema imunitário, pois consegue “driblar” o sistema bactericida existente nestas e os macrófagos também são relativamente ineficazes em destruir a bactéria (MAFRA, 2004).

Ainda não foi devidamente esclarecido como a bactéria invasora se movimenta por entre os neutrófilos e os macrófagos na corrente sanguínea, fora das células. Observou-se que

ela pode passar pelo tecido linfóide e se abrigar em órgãos de eleição como o baço, fígado, medula óssea e órgãos do sistema reprodutor (MAFRA, 2004).

Segundo Lawinsky et al. (2011), em temperaturas abaixo de 5°C, a *Brucella* tem seu crescimento e multiplicação inibidos, porém, persistem mesmo a temperaturas de congelamento. É destruída em 15 segundos à temperatura de 72°C e em três minutos a 62-63°C (temperatura de pasteurização). Não resiste a pH's ácidos, inferiores a 4,2.

A infecção no homem é de caráter ocupacional, em especial àqueles que lidam diretamente com animais ou seus produtos, como trabalhadores rurais, magarefes, médicos veterinários, técnicos de laboratório, pois estão mais expostos aos fatores de risco (AWORK, 2013). A transmissão ao homem pode se dar pelo consumo de leite e seus derivados não pasteurizados, pelo contato direto de mucosas, escoriações ou feridas na pele com tecidos animais, sangue, urina, secreções vaginais, fetos abortados e placentas de animais infectados, inalação de aerossóis contaminados, por acidentes em laboratórios e autoinoculação acidental da vacina quando da aplicação em animais (NOCITI, 2008; SOFIAN et al., 2008; LAWINSKY et al., 2011).

Quanto à transmissão pelo contato direto com a carne em abatedouros, este não é um fator de risco tão significativo devido ao fato de a quantidade de bactérias brucélicas presentes na musculatura ser mínima (TENÓRIO, 2008). O consumo de carne também não é um meio de transmissão comum, já que além do número de bactérias ser baixo na carne, o consumo cru não é rotineiro (TENÓRIO, 2008; LAWINSKY et al., 2011).

Existem outras formas de transmissão humana, contudo, pouco prováveis, como a contaminação de vegetais por fezes e urina de animais infectados. A transmissão entre humanos é rara, embora existam relatos de transmissão sexual, intrauterina, por aleitamento materno e por transplante de sangue e medula (BRASIL, 2005; LAWINSKY et al., 2011).

2.4 Sinais Clínicos em Humanos

O período de incubação da brucelose varia de uma a três semanas ou meses, com quadro clínico caracterizado por febre intermitente, mal estar, cefaleia, sudorese intensa com cheiro ativo e desagradável, estado depressivo, perda de peso. Em alguns casos, pode apresentar supurações de órgãos como fígado e baço. Há outros sintomas como a anorexia, astenia, obstipação, náuseas, vômitos, ileíte, colite, peritonite bacteriana, tosse seca, alterações

comportamentais, alterações do sono, envolvimento de ossos e articulações, principalmente da articulação sacroilíaca. (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010; LAWINSKY et al., 2011).

Ainda pode haver complicações pulmonares como linfadenopatia, pneumonite intersticial, broncopneumonia, nódulos pulmonares e efusões pleurais. Nos órgãos geniturinários masculinos pode haver orquite, epididimite e o envolvimento renal é raro; em mulheres, pode ocorrer aborto, abscessos pélvicos e salpingite (LAWINSKY et al., 2011).

Há ainda manifestações cutâneas como nódulos, pápulas, eritema, petéquias e linfangite. Eventualmente epistaxe, gengivorreia e hematúria. Lesões oculares como a uveíte pode ocorrer. Quanto à complicações cardiovasculares, a endocardite é a mais comum e está geralmente associada aos casos letais de brucelose (LAWINSKY et al., 2011).

Em Saúde Pública, a doença pode apresentar consequências relevantes como a incapacidade temporária para o trabalho, variando de 15 a 90 dias, a submissão a tratamentos médicos prolongados e onerosos, a recuperação lenta e com possíveis sequelas no sistema locomotor, nos equilíbrios psíquico e psicológico dos acometidos (LOUZÃ, 1993; LAWINSKY et al, 2011).

2.5 Diagnóstico

Devido a brucelose possuir sintomatologia inespecífica, é de difícil diagnóstico, pois facilmente pode ser confundida com várias outras enfermidades, ainda mais pelo fato do desconhecimento por parte dos médicos sobre a doença de um modo geral, o que retarda o tratamento adequado e a tomada de medidas profiláticas (FRANCO, 2007; LUCERO, 2007).

Não há técnicas específicas para o diagnóstico da brucelose em humanos, o que dificulta o diagnóstico da doença, sendo utilizados os mesmos testes sorológicos para diagnósticos em animais (PESSEGUEIRO, 2003). Como os sintomas clínicos não são suficientes para fechar um diagnóstico é de suma importância a realização de uma investigação epidemiológica, ressaltando que caso a doença não seja diagnosticada no início, ela pode evoluir para um quadro crônico, agravando assim, o estado do paciente (ALMEIDA, 2009).

O diagnóstico laboratorial da brucelose pode ser dividido em dois tipos: os testes diretos, como a cultura e a reação em cadeia da polimerase - PCR e os testes indiretos ou sorológicos como o Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), a Soroaglutinação (SAT), a Microaglutinação (MAT), o de Imunoadsorção Enzimática (ELISA), o Ensaio Homogêneo de Fluorescência Polarizada (FPA), dentre outros (BRASIL, 2012).

Os métodos mais utilizados para o diagnóstico da brucelose, segundo o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) (BRASIL, 2006) são:

- O teste de soroaglutinação (indireto) com AAT, que serve para triagem e é preparado com antígeno de 8% de concentração, tamponado em pH ácido de 3,65 e corado com o Rosa Bengala. É uma prova qualitativa, à medida que não indica o título de anticorpos do soro testado; a leitura indica a presença ou ausência do isotipo da classe IgG1 apenas, inibindo a atividade aglutinante de IgM, detectando infecções recentes;
- O teste do 2-Mercaptoetanol, sorológico (indireto), utilizado como confirmatório. É caracterizado como quantitativo seletivo, pois detecta somente a imunoglobulina IgG no soro, que é indicativa de infecção crônica e a IgM degrada-se em presença de substâncias contendo radicais tiol como o 2 – ME;
- O teste de Fixação de Complemento – FC, é utilizado como confirmatório, caso o teste do 2–ME apresentar resultado inconclusivo. Detecta precocemente tanto IgM como IgG1, contudo, o isotipo IgG1 é mais efetivo com fixador de complemento.

Portanto, é recomendado fazer-se primeiramente o teste de triagem, daí, as amostras reagentes ao AAT devem ser submetidas a testes confirmatórios mais específicos e com maior sensibilidade como o 2 – Mercaptoetanol e FC (BRASIL, 2006).

O teste de FC é o indicado pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) para o trânsito internacional de animais. É utilizado em diversos países que erradicaram ou estão em fase de erradicar a brucelose (BRASIL, 2003).

Quanto ao diagnóstico diferencial, este é feito com doenças que cursem com febre de origem desconhecida, endocardite bacteriana, febre tifoide, tuberculose, leptospirose, criptococose, histoplasmose, mononucleose, malária, neoplasias e transtornos neuropsiquiátricos como a depressão (SANTA CATARINA, 2012).

2.6 Tratamento em Humanos

Como medidas gerais, recomenda-se o repouso; alimentação de fácil ingestão, hipercalórica e rica em proteínas; hidratação; uso de analgésicos e apoio psicológico. Fazer um estudo epidemiológico no domicílio do paciente, com os demais da família é importante (JAKOBI, 2017).

A antibioticoterapia recomendada é Doxiciclina (200mg/dia) + Rifampicina (600 – 900mg/dia) por seis semanas. Em recidivas, repetir o tratamento. Ressalta-se que em gestantes, nutrízes e crianças menores de sete anos de idade, não usar a Doxiciclina, e sim, o Sulfametoxazol/Trimetoprim (800/160 mg/dia) + Gentamicina (0mg/dia) e que durante todo o tratamento deve-se ter o acompanhamento ambulatorial, onde, chegando ao fim, após a terceira semana de tratamento, deve-se realizar além da avaliação clínica, a sorológica (BRASIL, 2010).

É importante lembrar que em casos onde houve uma infecção acidental pela vacina RB51, a Rifampicina deve ser substituída por Gentamicina ou Estreptomicina, devido a cepa vacinal ser resistente à Rifampicina (SANTA CATARINA, 2012).

Após o tratamento, deve-se fazer uma avaliação clínica no 1º e 2º mês; e no 3º, 6º, 12º, 18º e 24º mês, faz-se uma avaliação clínica e sorológica, com alta do paciente em dois anos (BRASIL, 2010).

A cura é avaliada pela diminuição da positividade da IgG, que, às vezes, é negativa na fase subaguda e sempre na forma crônica. O prognóstico está diretamente relacionado com os títulos de IgG não diminuírem mesmo após o tratamento, o que é indicativo de cronicidade ou recidiva. Já títulos de IgG decrescentes podem indicar infecção tratada corretamente ou exposição no passado (CUNHA, 2002).

2.7 Profilaxia

São várias as ações para a prevenção da brucelose em humanos, a começar pela principal que é o controle e a erradicação da doença nos animais por meio da vacinação e eliminação do rebanho daqueles positivos (BRASIL, 2009); ações educativas por meio da conscientização e orientação dos trabalhadores e população em geral sobre a doença, incluindo as formas de transmissão e os fatores de risco (SOFIAN et al., 2008; KHALILI, 2012); orientar quanto ao consumo de leite e derivados somente após o processo de pasteurização, além de evitar a ingestão de carnes cruas, mal passadas/cozidas (SCHEIN et al., 2004; SANTA

CATARINA, 2012); higiene adequada de vegetais antes do consumo; esclarecer a importância do uso de EPI's e proteção de lesões cutâneas, caso presentes (SCHEIN et al., 2004).

É válido ressaltar aos grupos ocupacionais da criação de hábitos como a higiene pessoal melhorada, inclusive após a rotina de trabalho, a desinfecção de EPI's e demais materiais/equipamentos de trabalho, evitando assim, a disseminação da bactéria, uma vez que esta sobrevive por longos períodos no ambiente e que ainda não existe uma vacina eficaz para o controle da doença em humanos (BRASIL, 2001; VASCONCELOS, 2003; ALMEIDA, 2009; SANTA CATARINA, 2012).

Consolidação efetiva do PNCEBT, não só na questão do saneamento do rebanho, como também para padronizar e garantir a qualidade do diagnóstico e da vigilância sanitária ativa, além de definir o papel dos órgãos públicos de defesa e inspeção sanitária animal e sua integração com os pecuaristas, com instituições de ensino ou pesquisa, com médicos veterinários que atuam no setor privado e com laboratórios não pertencentes à rede do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2009)

E, quanto à saúde pública, realizar trabalho de educação sanitária junto aos profissionais da saúde, para um melhor conhecimento e uma atenção mais detalhada no que diz respeito à doença, ao seu diagnóstico, notificação e acompanhamento do paciente. A brucelose não é uma enfermidade de notificação obrigatória em casos isolados. Porém, em surtos desta enfermidade em humanos, devem ser notificado, investigado e adotadas medidas de controle. Há muita dificuldade em se fechar um diagnóstico, pois além de ser uma doença de difícil diagnóstico devido à semelhança de seus sinais clínicos com várias outras doenças, há também o pouco preparo do profissional da saúde para lidar com esta enfermidade, incluindo a própria falta de conhecimento sobre a brucelose.

2.8 Referências

ALMEIDA, T. M P - **A Última Década no Centro Hospitalar da Cova da Beira, E.P.E.2009**, 96 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina), Universidade da Beira Interior- Faculdade de Ciências da Saúde. Cova da Beira, 2009.

ALTON, G. G.; JONES, L. M.; ANGUS, R. D.; VERGER, J. M. Techniques for the Brucellosis Laboratory. **Institut National de la Recherche Agronomique**, 1988. Paris, France, 190 p.

AWORK, A.K et al. Human brucellosis: seroprevalence and associated exposure factors among abattoir workers in Abuja, Nigeria. **The Pan African Medical Journal** .v.16, n.16, 2013.

BEER, J. Brucelose Bovina. **Doenças Infecciosas em Animais Domésticos**. São Paulo: Roca. v.2. 1998.

BRASIL, Ministério da Saúde do Brasil. **Doenças relacionadas ao trabalho: manual de procedimentos para os serviços de saúde**. Brasília: Ministério da Saúde do Brasil, 2001. 290p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT) – Manual Técnico - Versão Preliminar**. p.31. Brasília: MAPA/DAS/DAS, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de vigilância epidemiológica. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso**. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde. 2005. 320p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT) – Manual Técnico**/Organizadores: Vera C.F.de Figueiredo, José R. Lobo, Vitor S.P. Gonçalves. p. 36 a 42. Brasília: MAPA/SDA/DAS, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças Infecciosas e Parasitárias: Guia de Bolso**/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 320p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 6, de 8 de janeiro de 2004**, p 5. Brasília, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças Infecciosas e Parasitárias: Guia de Bolso**/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 8. ed. rev. p. 106. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Diretoria de Vigilância Epidemiológica – DIVE/SES/SC e Laboratório Central de Saúde Pública – Lacen/SES/SC. **Protocolo Estadual de Vigilância e Manejo Clínico de Brucelose Humana**, Santa Catarina, janeiro de 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Morbidade do SUS por local de internação: **Lista Morbidade CID-10: Brucelose**: internações, óbitos e média de permanência em internação por ano, processamento segundo Região e Unidade da Federação. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sih/cnv/niuf.def> Acesso em: novembro 2017.

CORBEL, M. J. Brucellosis in humans and animals. **World Health Organization**. 2006. Disponível em: <<http://www.who.int/csr/resources/publications/Brucellosis.pdf>> Acesso em: 14 dez 2013.

CUNHA, M.; MIGUEL, N.; MANSO, J.A. **Brucelose em Pediatria**. Secção de Infectologia Pediátrica. 2002.

FRANCO, M.P.; MULDER, M.; GILMAN, R.H.; SMITS, H.L. Human brucellosis. **Lancet Infect Dis** v.7, 2007.

FOSTER, G.; OSTERMAN, B. S.; GODFROID, J.; JACQUES, I.; CLOECKAERT, A. ***Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts**. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, Reading, v. 57, p. 2688–2693, 2007. Disponível em: <<http://ijs.sgmjournals.org/cgi/reprint/57/11/2688>>. Acesso em: 17 mai. 2016.

GONÇALVES, D.D et al. Seroepidemiology and occupational and environmental variables for leptospirosis, brucellosis and toxoplasmosis in slaughterhouse workers in the Paraná state, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop.** S. Paulo. v.48, n.3, p.135-140, 2006.

JAKOBI, H. R. **Brucelose Humana: uma endemia emergente?** Coletânea em Saúde do Trabalhador. 1 ed. Porto Velho: Temática Editora, 2017, v.1, p. 185-192.

KASSIRI, H; Amani, H - Epidemiological, laboratory, diagnostic and public health aspects of human brucellosis in western Iran, **Asian Pac J Trop Biomed**; v.3, n.8, p. 589-594, 2013.

KHALILI, M et al. Seroprevalence of brucellosis in slaughterhouse workers in Kerman city, Iran, **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. p.448-450, 2012.

LAWINSKY, M.L.J.; OHARA, P.M.; ELKHOURY, M.R.; FARIA, N. C.; CAVAL-CANTE, K.R.L.J. **Estado da Arte da Brucelose em Humanos**. Revista Pan-Amazônica de Saúde (online), v.1, n.4, pp.75-84, ISSN 2176-6223, 2011.

LOUZÃ, A.C. **Medicina Veterinária**. p.23-27, 1993.

LUCERO, N.E; AYALA, S.M; ESCOBAR, G.I. *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. **Epidemiol. Infect.** v.136, p. 496–503, 2007.

MAFRA, P. **Impacto da Brucelose no Ambiente e Saúde Pública**. 2004 www.catraios.ipb.pt/profs/salarecursos/maten/brucelas.pdf, consultado em 05 abr 2016.

MAQUART, M. *et al.* MLVA-16 typing of 295 marine mammal *Brucella* isolates from different animal and geographic origins identifies 7 major groups within *Brucella ceti* and *Brucella pinnipedialis*. **BMC Microbiology**. v.9, 2009.

MAURIN, M. **La brucelose à l'aube du 21 siècle**. *Médecine et Maladies Infectieuses*, v.35, p.6-16, 2005.

MORENO, E.; CLOECKAERT, A.; MORIYÓN, I. ***Brucella* evolution and taxonomy**. *Veterinary microbiology*, Amsterdam, v. 90, n. 1-4, p. 209–227, dez. 2002.

Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/414145>>. Acesso em: 17 mai. 2016.

NASSIR, W. A. **Brucellosis**: emedicine, 2013. Disponível em: <www.emedicine.com/article/213430-overview> Acesso em: 10 dez 2013.

NOCITI, R.P et al. Fatores de risco associados à brucelose em médicos veterinários com predisposição ocupacional em Mato Grosso, Brasil. In: CONBRAVET, 35, 2008, Gramado. **Anais...** Gramado: Sovergs, 2008. p. 630 - 636.

OIE. World Organization for Animal Health (OIE). Chapter 2.4.3. **Bovine brucellosis**. In: **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. Paris: OIE; 2009.

OSTERMAN, B.; MORIYÓN, I. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology: Subcommittee on the taxonomy of *Brucella*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. v.56, p.1173-1175, 2006.

PAJUABA, A.C.A.M. **Avaliação de frações hidrofóbicas e hidrofílicas de *Brucella abortus* em ensaios imunoenzimáticos para caracterizar o perfil de anticorpos produzidos por bovinos vacinados e não-vacinados**. 2006. 64 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas)- Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

Disponível em: http://www.bdtf.ufu.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=502. Acesso em: 16 mai. 2016

PESSEGUEIRO, P.; BARATA, C.; CORREIA, J. Brucelose, uma Revisão Sistematizada. *Med. Interna*. 2003; 10(2): 91-100.

SANTA CATARINA. Diretoria de Vigilância Epidemiológica. **Protocolo estadual de vigilância e manejo clínico de brucelose humana**. 2012. p.29.

SCHEIN, F et al. Prevalência de brucelose em bovinos de leite e fatores de risco associados a transmissão em seres humanos. **Arq.Inst.Biol**, São Paulo, v.71, (supl.), p.1-749, 2004.

SCHOLZ, H.C. *et al.* *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. v.58, p.375382, 2008.

SOFIAN, M et al . Risk factors for human brucellosis in Iran: a case-control study. **International Journal of Infectious Diseases** ,v., p.157-161. 2008.

TENÓRIO, T.G.S.; MELO, L.E.H.; MOTA,R.A.; FERNANDES, L.M.; SÁ,L.M.; SOUTO,R.J.C.,et al. **Pesquisa de Fatores de Risco para a Brucelose Humana Associados à Presença de Brucelose Bovina no Município de Correntes, Estado de Pernambuco, Brasil.** Arq. Inst. Biol. 2008. Out-dez; 75(4): 415-21.

TEIXEIRA, W.C.; SANTOS, H.P.; OLIVEIRA, M.M.M.; PEREIRA, H.M.; OLIVEIRA, R.A.; NEGREIROS, R.C.; SOARES FILHO, P.M.; SANTANA, S.S.; CASTRO, R.S. **Brucelose Bovina e Humana Diagnosticada em Matadouro Municipal de São Luís, MA.** Ciên. Vet. Tróp., Recife-PE, v.10, n 2/3, p.86-94, mai/dez, 2007.

VASCONCELOS, C.G.C. **Zoonoses ocupacionais: inquérito soroepidemiológico em estudantes de Medicina Veterinária, e Análise de Risco para Leptospirose, Brucelose e toxoplasmose.** 2013. Tese (Pós- Graduação em Doenças Tropicais)- Faculdade de Medicina de Botucatu, da Universidade Estadual Paulista-UNESP, Botucatu. 2003.

VERONESI, R. **Doenças Infecciosas e Parasitárias.** 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976. p.421.

CAPÍTULO 3: Artigo Científico

ORIGINAL**Ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no Estado do Maranhão**

Occurrence of Brucella abortus in slaughterhouse workers in the state of Maranhão

Alexandra Evangelista FERNANDES¹, Hamilton Pereira SANTOS¹, Nancyleni Pinto Chaves BEZERRA^{1*}.

*Endereço para Correspondência: ¹Curso do Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Animal, Prédio de Agronomia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Cidade Universitária Paulo VI, Cx. Postal 9, Tirical, CEP 65055-970, São Luís, MA, Brasil, Tel.: (98) 3244-6728, *E-mail: nancylenichaves@hotmail.com

RESUMO

O objetivo do estudo foi determinar a ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de abatedouros frigoríficos no estado do Maranhão. Para isso, foram convidados a participarem voluntariamente 108 funcionários de cinco frigoríficos ligados diretamente à atividade de abate de bovinos. A coleta das amostras de sangue foi realizada pela punção da veia cefálica, conduzida por uma técnica de laboratório. Anteriormente à coleta, cada trabalhador respondeu a um questionário epidemiológico para estudar possíveis fatores de risco associados à brucelose nestes profissionais. O diagnóstico sorológico de triagem para detecção de anticorpos anti-*Brucella abortus* utilizado foi o Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), apresentando quatro amostras reagentes (3,70%/108), as quais foram submetidas simultaneamente aos testes confirmatórios Soroaglutinação Lenta em Tubos e 2-Mercaptoetanol, sendo as quatro amostras não reagentes. Dentre os fatores de risco avaliados, o “consumo de vegetais crus” apresentou significância estatística ($P < 0,05$) associada à brucelose. Não foram identificados resultados positivos para *B. abortus* nas 108 amostras de funcionários de frigoríficos abatedouros avaliados. Porém, como a brucelose é endêmica em rebanhos bovinos no estado do Maranhão

e tendo em vista todo o processo de trabalho desempenhado em frigoríficos, há grandes possibilidades dessa categoria de profissionais se infectarem.

Palavras-chave: Brucelose Humana; Zoonoses; Doenças Ocupacionais; Maranhão.

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the occurrence of *Brucella abortus* in slaughterhouse workers in the state of Maranhão. For this purpose, 108 employees from five slaughterhouses directly involved in the slaughtering of cattle were invited to participate voluntarily. The collection of blood samples was performed by the cephalic vein puncture, conducted by a laboratory technique. Prior to the collection, each worker answered an epidemiological questionnaire to study possible risk factors associated with brucellosis in these professionals. The serological diagnosis of screening for anti-*Brucella abortus* antibodies used was Acidified Buffered Antigen (AAT), presenting four reagent samples (3.70% / 108), which were submitted simultaneously to the confirmatory tests. Slow Soro-agglutination in Tubes and 2 -Mercaptoethanol, the four samples being non-reactive. Among the risk factors evaluated, the "consumption of raw vegetables" presented statistical significance ($P < 0.05$) associated with brucellosis. No positive results were identified for *B. abortus* in the 108 samples from slaughterhouse employees evaluated. However, since brucellosis is endemic in cattle herds in the state of Maranhão and considering the entire work process performed in slaughterhouses, there are great possibilities for this category of professionals to become infected.

Keywords: Human Brucellosis; Zoonoses; Occupational Diseases; Maranhão.

INTRODUÇÃO

As zoonoses implicam em graves problemas de saúde pública no mundo. Estima-se que 61% do geral de patógenos humanos sejam zoonóticos e que estes representam 75% de todos os patógenos emergentes relatados na última década. Estes agentes zoonóticos podem ser bactérias, vírus, fungos ou outro agente de doença transmissível¹.

A veiculação destas doenças em frigoríficos pode ocorrer por manipulação de carcaça animal, de vísceras contaminadas, do contato com sangue, urina, fezes e material perfuro-cortante durante as diversas etapas do processo de abate². A propagação dessas enfermidades zoonóticas está diretamente relacionada com a capacidade do agente etiológico em manter-se em condições viáveis nas fontes de infecções³.

A brucelose, por exemplo, é uma das principais zoonoses ocupacionais. Sua prevalência em humanos é diretamente proporcional à prevalência em animais, o que significa que a prevalência maior da doença está em regiões onde a população rural é predominante e onde não se tem um controle ideal da sanidade animal, facilitando dessa forma, a infecção do homem⁴.

A doença é causada por microrganismos do gênero *Brucella*, que são bactérias intracelulares facultativas do tipo cocobacilos gram-negativos imóveis que infectam células do sistema mononuclear fagocitário⁵. Os bacilos são aeróbios, tendo ótimo crescimento à temperatura de 37°C, mas, em temperaturas que variam entre 20°C a 40°C e pH entre 6,6 a 7,4 também podem crescer⁶.

No Brasil, é relevante a preocupação com a brucelose, seja relacionada à saúde animal, à saúde pública, e ainda, em virtude do quantitativo e distribuição do rebanho nacional, associada ainda, a endemicidade da infecção. Em bovinos, a doença, provoca perdas diretas em decorrência da diminuição de índices reprodutivos, como abortamentos, aumento do intervalo entre partos, decréscimo na produção de leite, de carne e óbito de bezerros⁷.

Em humanos, a maioria dos casos de brucelose no país está associada à espécie *Brucella abortus*⁸. Os principais sintomas são: febre intermitente, mal estar, cefaleia, sudorese intensa com cheiro ativo e desagradável, estado depressivo, perda de peso, anorexia, astenia, obstipação, náuseas, vômitos, ileíte, colite, peritonite bacteriana, tosse seca, alterações comportamentais, alterações do sono, envolvimento de ossos e articulações.^{9,10,11} Nos órgãos geniturinários masculinos pode haver orquite, epididimite; em mulheres, pode ocorrer aborto, abscessos pélvicos e salpingite.¹¹

Nos frigoríficos, a inspeção *post-mortem* é fundamental para a identificação de lesões sugestivas de doenças, como as zoonóticas, sendo que o uso de medidas preventivas evitaria a disseminação de agentes patogênicos entre trabalhadores desses estabelecimentos.^{12,13}

Nessa perspectiva, realizou-se este estudo com o objetivo de determinar a ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no Estado do Maranhão.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo, do tipo descritivo transversal com uma abordagem quantitativa foi realizado em cinco frigoríficos implantados no Estado do Maranhão, sendo três sob Serviço de Inspeção Municipal (SIM), denominados A, B e C e, dois sob Serviço de Inspeção Estadual (SIE), denominados D e E.

Constituiu o universo amostral desse estudo, trabalhadores dos frigoríficos supracitados, ambos os sexos (97 do sexo masculino e 11 do sexo feminino), que concordaram em participar voluntariamente da pesquisa mediante a prévia assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Apêndice A), de acordo com o que consta na Resolução 466/2012, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, do Conselho Nacional de Saúde – CNS, do Ministério da Saúde¹⁴ – MS. A pesquisa foi devidamente registrada no Sistema do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/CONEP (Apêndice B).

A Tabela 1 sumariza a quantidade de amostras séricas de trabalhadores amostrados por frigorífico.

Tabela 1. Quantitativo de amostras séricas de trabalhadores amostrados por frigorífico, 2017.

Frigorífico	Trabalhadores de Frigoríficos	
	Masculino	Feminino
A	21	01
B	34	07
C	13	01
D	11	01
E	18	01
Total	97	11

Foram selecionados trabalhadores envolvidos em diferentes funções/atividades no abate de bovinos, entre eles: funcionários dos frigoríficos, funcionários dos Serviços de

Inspeção (SIM e SIE). Quanto aos funcionários dos frigoríficos estes realizavam suas atividades em diferentes setores: curral, pistola, sangria, içamento, esfolagem, evisceração, serragem de carcaça, toalete, vísceras (vermelhas e brancas), fataria, couro, cabeça, limpeza geral e responsabilidade técnica dos estabelecimentos.

Cada trabalhador participante do estudo respondeu a um questionário de identificação com o número de ordem, e dados pessoais: (i) nome, (ii) idade, (iii) tempo de trabalho no frigorífico, (iv) setor e, (v) data da coleta do material biológico. A ficha continha também questões relacionadas ao conhecimento sobre as doenças zoonóticas, com foco na brucelose.

As coletas de sangue foram realizadas por uma técnica de laboratório. Colheu-se 5ml de sangue, através de venopunção em tubos a vácuo (Vacutainer) com ativador de coágulo para obtenção do soro, previamente identificados. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente até ocorrer a coagulação e retração do coágulo, sendo posteriormente conduzidas sob refrigeração em caixa de isopor com gelo reutilizável até o Laboratório de Diagnóstico de Doenças Infecciosas do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 3.000 rpm para obtenção total do soro, aliqüotadas, armazenadas em microtubos (*ependorfs*)[®] com capacidade para 1,5 ml e levados ao congelamento (-20° C) para posterior realização do diagnóstico sorológico.

O diagnóstico sorológico foi realizado em série da seguinte forma:

- (i) O Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) produzido pelo TECPAR foi empregado como teste de triagem;
- (ii) As amostras reagentes no AAT foram submetidas simultaneamente ao 2-Mercaptoetanol (2-ME) e Soroaglutinação Lenta em Tubos (SAL) utilizando antígeno produzido pelo TECPAR, nas titulações de 1:25, 1:50, 1:100 e 1:200.

Para o cálculo da ocorrência de *B. abortus* em funcionários dos frigoríficos em questão, utilizou-se análise estatística descritiva por meio de distribuições absoluta e relativa. Já para o estudo dos fatores de risco empregou-se estatística por meio do teste Exato de Fisher. Foram utilizados nível de significância para decisão dos testes estatísticos de 5% (0,05) e intervalos de confiança de 95%. Os programas utilizados para a obtenção da análise foi o InStat 2.0 versão 2003 e o EpInfo 3.43 versão 2007.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 108 amostras, quatro foram reagentes ao AAT. A Tabela 2 sumariza o quantitativo de funcionários reagentes de acordo com o abatedouro frigorífico avaliado, sexo, idade, tempo e setor de trabalho.

Tabela 2. Quantitativo de funcionários reagentes ao teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) de acordo com o abatedouro frigorífico, sexo, idade, tempo e setor de trabalho, 2017.

Abatedouros Frigoríficos	Funcionários Reagentes (AAT)	Sexo	Idade	Tempo de Trabalho	Setor de Trabalho
A	01	M	19	05 meses	Içamento/Sangria
B	01	M	35	10 anos	Vísceras/Fataria
	01	M	30	05 anos	Esfola
	01	M	52	20 anos	Vísceras/Cabeça

Quatro funcionários, sendo um do frigorífico A e três do frigorífico B, foram reagentes ao AAT, observando que estes abatedouros possuem Serviço de Inspeção Municipal – SIM. A totalidade dos funcionários reagentes era do sexo masculino. Em estudo, relatou-se que as mulheres podem ser mais susceptíveis às demandas impostas pelo trabalho e, conseqüentemente, sofrerem com maior frequência os problemas relacionados a lesões por esforços repetitivos¹⁵ (LER). Essa situação pode ser a considerada nos abatedouros-frigoríficos avaliados para manter maior percentual de força de trabalho masculina e resultarem em maior percentual de reagentes.

Em relação à idade, observou-se maior quantitativo de reagentes (75%; n=3/4) na faixa etária de 30 a 52 anos. Os funcionários avaliados foram estratificados da seguinte forma: (i) Estrato I - entre 18 a 30 anos (25%; n=27/108); (ii) Estrato II - entre 31 a 40 anos (32,40%; n=35/108); (iii) Estrato III - entre 41 a 50 anos (23,14%; n=25/108); e, (iv) Estrato IV mais de 50 anos (19,44%; n=21/108). Pela estratificação da faixa etária, pode-se observar maior percentual de funcionários nos estratos I e II. O perfil dos funcionários do frigorífico avaliado na faixa etária da população economicamente ativa está possivelmente associado ao tipo de trabalho executado que requer grande esforço e resistência física no processo de trabalho.

Referente ao tempo de serviço, 75% dos funcionários reagentes relatou trabalhar formalmente há mais de cinco anos nos frigoríficos, executando suas atividades no setor de esfola e limpeza de vísceras. Estudos realizados sobre essa mesma temática no Brasil,

evidenciam maiores taxas de prevalências em trabalhadores que exercem a atividade por mais de cinco anos consecutivos. E referente à atividade executada, os estudos mostram que aquelas diretamente relacionadas ao abate são as que mostram maiores taxas de positividade, o que corrobora com a presente pesquisa.^{16,17}

Os fatores de risco estão discriminados na Tabela 3. A análise estatística revelou diferenças significativas ($P \geq 0,05$) entre a soropositividade e a variável comportamental consumo de vegetais ($P < 0,05$) crus associados à ocorrência de *B. abortus*, o que pode estar relacionado a não higienização adequada destes vegetais, já que estes podem ser contaminados por meio do esterco contendo o agente.

Tabela 3. Fatores de risco para a ocorrência de *Brucella abortus* em trabalhadores de frigoríficos no Município de São Luís – MA, 2017.

VARIÁVEIS	Descrição	<i>Brucella abortus</i> – Teste AAT			Valor de P*
		Reag.	Não reag.	OR (IC 95%)	
Ingestão de leite <i>in natura</i>	Sim	3	41	4,610	0,3021
	Não	1	63		
Consumo de carne mal passada/cozida	Sim	2	43	1,419	1,0000
	Não	2	61		
Consumo de vegetais crus	Sim	2	100	0,040	0,0148*
	Não	2	4		
Acidente	Sim	2	71	0,4648	0,5938
	Não	2	33		
Ordenha	Sim	2	15	5,933	0,1159
	Não	2	89		
Jardinagem	Sim	1	10	3,133	0,3535
	Não	3	94		
Relação sexual sem proteção	Sim	2	77	0,350	0,2917
	Não	2	27		

Onde: AAT= Antígeno Acidificado Tamponado; OR= Razão de chances; IC 95%= Intervalo de confiabilidade ao nível de 95%; p* Significância ao nível de 5%.

As amostras reagentes ao AAT foram submetidas simultaneamente ao 2-Mercaptoetanol (2-ME) e Soroaglutinação Lenta em Tubos (SAL) e, três (75%) apresentaram resultados inconclusivos. Logo, após quatro meses da primeira coleta, procedeu-se a coleta de amostras sanguíneas dos quatro funcionários reagentes e dos testes laboratoriais (triagem e

confirmatório). Porém, apesar de reagentes no AAT foram negativos no 2-ME + SAL nesse segundo análise.

O teste do AAT possui grande sensibilidade podendo assim ocorrer reações falso-positivas em bovinos,^{18,19} essa situação pode ter ocorrido no presente estudo. Também há relatos de resultados falso-negativos,^{20,21} além do fenômeno prozona, relatado por Nicoletti.²²

Visto que a sensibilidade é crucial na triagem inicial, a ocorrência de algumas amostras falso-positivas devem ser toleradas, para que possa ser detectado todo animal ou indivíduo infectado.²³ Assim, provas confirmatórias de maior especificidade devem ser realizadas, para evitar o sacrifício de animais não infectados porém, geralmente elas são mais caras e laboriosas.²⁴

Das 108 amostras séricas examinadas, quatro (3,70%) foram reagentes no teste de triagem (AAT). Contudo, nenhuma amostra foi confirmada por meio dos testes de SAL e 2-ME nas diluições testadas.

A brucelose é considerada doença ocupacional, estando associada a determinados grupos profissionais, como magarefes, veterinários e laboratoristas.^{25,26,27} Garcia et al.²⁸ não encontraram resultados positivos ao avaliar 115 amostras de soros de moradores da área rural de Guaraci, no Estado do Paraná.

Com relação ao uso de EPI's, a maioria (91,66%; n=99/108) dos funcionários disseram fazer uso de algum tipo, como capacete, gorro, óculos, botas, avental e luvas. Quanto ao nível de conhecimento sobre a doença, 55,56% (n=60/108) disseram que já “ouviram falar sobre a brucelose”, enquanto 44,44% (n=48/108) afirmaram não conhecer a doença, o que é preocupante, pois isto reflete a falta de capacitação, de treinamento, incluindo aqui, a biossegurança. E sobre a realização de exame para brucelose, 35,19% (n=38/108) disseram haver feito “alguma vez,” e 64,81% (n=70/108) nunca fizeram exame para brucelose, outro fato que também é relevante à medida que expressa o indevido cuidado para com a saúde dos funcionários destes estabelecimentos.

De acordo com o exposto acima, observa-se que a implantação e a prática de Boas Práticas de Fabricação – BPF's nestes abatedouros frigoríficos de certa forma está comprometida, pois as condições de saúde dos funcionários, a regularidade de capacitações/treinamentos, incluindo sua uniformidade, são quesitos essenciais às Boas Práticas.

É sabido que a aplicação de BPF's em uma indústria de alimentos influencia positivamente na qualidade dos produtos juntamente com sua higiene sanitária levando a uma consequente redução de riscos, oferecendo segurança e agradando os consumidores, além de

otimizar bastante o processo produtivo e reduzir custos desnecessários à medida que promove um ambiente de trabalho mais harmônico e eficiente.³⁰

Independente dos resultados obtidos no presente estudo, torna-se necessária a educação em saúde da população em geral. De acordo com Dias²⁹, a educação em saúde é um processo ativo e contínuo, que promove mudanças no conhecimento, atitudes e comportamento das pessoas frente aos problemas sanitários, com o objetivo de melhorar as condições diretas e indiretas da saúde das pessoas.

CONCLUSÃO

Considerando a análise e interpretação dos aspectos sanitários relativos à brucelose, pode-se concluir que não foram identificados resultados positivos para *B. abortus* nas 108 amostras de funcionários de abatedouros frigoríficos avaliados. Contudo, como a brucelose é endêmica em rebanhos bovinos no estado do Maranhão e tendo em vista a complexidade e dinâmica do trabalho executado nos frigoríficos, o rodízio de funcionários por diversos setores, o tempo de exposição aos fatores de risco, o não uso ou uso incompleto de EPI's, é relativamente grande a possibilidade dessa categoria de profissionais se infectarem.

Como sugestões para a redução do risco de agentes zoonóticos em profissionais que trabalham em abatedouros frigoríficos recomendam-se, em primeiro lugar, o controle e a erradicação da doença nos animais por meio da vacinação e eliminação do rebanho daqueles positivos; ações educativas por meio da conscientização e orientação dos trabalhadores e população em geral sobre a doença. Quanto à saúde pública, realizar trabalho de educação sanitária junto aos profissionais da saúde, para um melhor conhecimento e uma atenção mais detalhada no que diz respeito à doença, ao seu diagnóstico, notificação e acompanhamento do paciente.

REFERÊNCIAS

1. WHO – World Health Organization. Zoonoses and veterinary public health: The control of neglected zoonotic diseases. 2012a Disponível em: <http://www.who.int/zoonoses/control_neglected_zoonoses/en/>. Acesso em: 11 mai. 2016.

2. Tavolaro, P. Bicudo PIMT, Pelicioni MCF, Oliveira CAF. Empowerment como forma de prevenção de problemas de saúde em trabalhadores de abatedouros. Revista de Saúde Pública, 2007; 41(2):307-.

3. Viana FJC, Franklin FLAA, Pereira CF de C, Lima DBC, Junior AMC. , Rizzo M dos S. Abate clandestino de suínos e pequenos ruminantes na cidade de Teresina, Piauí: implicações na saúde ocupacional. Revista do Instituto de Ciências e Saúde, Teresina, 2014;1(1):38-47.

4. MAFRA, P. Impacto da Brucelose no Ambiente e Saúde Pública. 2004 www.catraios.ipb.pt/profs/salarecursos/maten/brucelas.pdf, consultado em 05/04/2016.

5. Silva NS. Estudo das vacinas contra brucelose bovina: revisão [dissertação de mestrado] 61f. São Paulo: Universidade de São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10134/tde-01072013-170508/pt-br.php>>. Acesso em: 15 nov. 2013.

6. BEER, J. Brucelose Bovina. Doenças Infecciosas em Animais Domésticos. São Paulo: Roca. v.2. 1998.

7. Olinto FA, Azevedo SS, Júnior JRS. Brucelose Bovina na Microrregião de Pau dos Ferros, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. Mossoró – Rio Grande do Norte, v. 7, n. 5, p. 20-23, ISSN 1981-8203, dezembro de 20. Disponível em: <<http://revista.gvaa.com.br>>. Acesso em: mai. 2016.

8. Cardoso SCT, Costa LMC. A Brucelose no Brasil sob o Enfoque da Saúde Pública. 20. Disponível em:

<<http://www.cpgls.ucg.br/7mostra/Artigos/SAUDE%20E%20BIOLOGICAS/A%20BRUCLOSE%20NO%20BRASIL%20SOB%20O%20ENFOQUE%20DA%20SA%20P%C3%9ADE%20P%C3%9ABLICA-TCC-revista%20PUC%5B1%5D.pdf>>. Acesso em: 10 mai. 2016.

9. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT) – Manual Técnico/Organizadores: Vera C.F.de Figueiredo, José R. Lobo, Vitor S.P. Gonçalves. p. 36 a 42. Brasília: MAPA/SDA/DAS, 2006.

10. BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças Infecciosas e Parasitárias: Guia de Bolso/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 8. ed. rev. p. 106. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

11. 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. Revista Pan-Amazônica de Saúde (online), v.1, n.4, pp.75-84, ISSN 2176-6223, 2011.

12. Germano MIS et al. Manipuladores de alimentos: Capacitar? É preciso. Regular? Será Preciso? Revista Higiene Alimentar, 2000;14(78/79):18-22.

13. Dias ICL. Prevenção de zoonoses ocupacionais em abatedouros de Bovinos. Revista Vivências, 20;8(15):89-98.

14. BRASIL. Conselho Nacional da Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012.

Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Diário Oficial da União, n. 12, Seção 1, Página 59, 13 jun. 2013.

15. DEFANI, J.C. Avaliação do Perfil Antropométrico e Análise Dinamométrica dos Trabalhadores da Agroindústria do Setor de Frigoríficos e Abatedouros: O Caso da Perdigão Carambei. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) UTFPR, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa.

16. Pedrosa, C de M. Prevalência e exposição à fatores de risco da brucelose humana no matadouro de Garanhuns-PE [monografia]. 2014, 45p. Garanhuns: Universidade Federal Rural de Pernambuco.2014.

17. Spinola AG, Costa MDM. Brucelose humana em operários de um frigorífico no município de Salvador, Bahia, Brasil. Revista de Saúde Pública, São Paulo, 1972;6(2):157-165,1972.

18. MEGID, J.; RIBEIRO, M.G.; MARCOS JÚNIOR, G.; CROCCI, A.J. Evaluation of rapid agglutination, tube agglutination, buffered plate antigen and 2- mercaptoethanol tests in the diagnosis of bovine brucellosis, Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v.37, n.4, p.395-99, 2000.

19. FOSGATE, G.T.; ADESIYUN, A.A.; HIRD, D.W.; JOHNSON, W.O.; HIETALA, S.K.; SCHURIG, G.G.; RYAN, J. Comparison of serologic test for detection of Brucella infections in cattle and water buffalo (*Bubalus bubalis*). American Journal of Veterinary Research, v.63, n.11, p.1598 – 1605, 2002.

20. GUARINO, A.; FUSCO, G.; DI MATTEO, A.; URBANI, G.; CONDOLEO, R.; SERPE, L.; TITTARELLI, M.; DI VENTURA, M.; GALLO, P. Indirect ELISA for the diagnosis of brucellosis in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Italy. *Veterinary Record*, v.149, p.88-90, 2001.
21. MOLNÁR, L.; MOLNÁR, E.; LIMA, E.S.C.; DIAS, H.L.T. Avaliação de seis testes sorológicos no diagnóstico da brucelose bubalina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.22, n.2, p.41-4, 2002.
22. NICOLETTI, P. An evaluation of serologic tests used to diagnose brucellosis in buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Tropical Animal Health Production*, v.24, n.1, p.40- 4, 1992.
23. BRICKER, B.J. Diagnostic strategies used for the identification of *Brucella*. *Veterinary Microbiology*, v.90, p.433-4, 2002.
24. NIELSEN, K. Diagnosis of brucellosis by sorology. *Veterinary Microbiology*, v.90, p.447-59, 2002.
25. Barbuddhe SB, Kumar P , Malika, S.V. et al. Seropositivity for intracellular bacterial infection among abattoir associated personnels. *Journal of Communicable Diseases*, New Delhi, 2000;32(4):295-299.
26. Memish Z, Balkhy H. Brucellosis and International Travel. *Journal of Travel Medicine*, 2004;11(1):49-55.
27. Berkelman RL. Human illness associated with use of veterinary vaccines. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, 2003;37(3):407-424.
28. Garcia JL, Navarro IT. Avaliação sorológica da leptospirose e brucelose em pacientes moradores da área rural do município de Guaraci, Paraná, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2001;34(3).
29. Dias ICL. Prevenção de zoonoses ocupacionais em abatedouros de bovinos. *Revista Vivências*. 2012;8(15):89-98.
30. NASCIMENTO NETO, F. Roteiro para elaboração de manual de Boas Práticas de fabricação (BPF) em restaurantes. 2ed. São Paulo: SENAC, 2005.

CAPÍTULO 4: Considerações Finais

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de não ter havido casos confirmados de brucelose humana em trabalhadores de abatedouros frigoríficos participantes do presente estudo, é necessário a mudança e o cuidado em alguns aspectos para evitar o surgimento da doença nestes profissionais, tanto da parte destes como também de veterinários e proprietários dos estabelecimentos, a exemplo: promoção de capacitações/treinamentos a fim de orientar, ensinar e explicar a respeito de zoonoses; da implantação e a prática diária de Boas Práticas de Fabricação (BPF's) e estimular certos hábitos, desde os relacionados à saúde individual, incluindo a higiene pessoal e a realização de exames de saúde com periodicidade ao uso de equipamentos de proteção individual (EPI's). Todos, em conjunto, sabendo dos riscos aos quais estão expostos, certamente irão tomar medidas adequadas de prevenção para evitar a doença.

Por fim, aliado ao disposto anteriormente e como a prevenção da brucelose advém de várias ações dos mais variados setores, são de fundamental importância as atividades da Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED) relativas ao controle e erradicação da doença no estado, incluindo também um maior esclarecimento a respeito das zoonoses, em especial a brucelose, aos profissionais da área da saúde por meio de palestras e capacitações.

Apêndices

APÊNDICE A

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA SANITÁRIA ANIMAL

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

Você está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa “**OCORRÊNCIA DE *Brucella abortus* EM TRABALHADORES DE FRIGORÍFICOS NO ESTADO DO MARANHÃO**”. A brucelose é uma zoonose, com características de acometer grupos ocupacionais específicos devido ao risco destes grupos terem contato com a *B. abortus*. No entanto, em humanos ainda não se observa uma atenção especial por parte dos órgãos de saúde, uma vez que, esta enfermidade é reconhecida mundialmente com potencial de infecção em seres humanos, principalmente em profissionais que trabalham diretamente com bovinos. Apesar disso, no Brasil, não se observa uma rede organizada de saúde pública capaz de identificar casos em humanos, bem como, na proposição de medidas para a prevenção; existem escassos dados epidemiológicos sobre a situação da possível ocorrência da brucelose em trabalhadores de abatedouros frigoríficos no estado do Maranhão. Nesta pesquisa pretendemos oferecer bases sólidas referentes à questão da brucelose humana na atualidade, por meio da avaliação de fatores de risco e da realização de exames laboratoriais de funcionários de abatedouros frigoríficos no estado do Maranhão. Para esta pesquisa adotaremos o(s) seguinte(s) procedimento(s): serão coletadas amostras de sangue de funcionários de abatedouros frigoríficos dos setores de curral, pistola, sangria, içamento, esfolagem, evisceração, serragem de carcaça, toaleta, vísceras (vermelhas e brancas), fátaria, couro, cabeça e limpeza geral, funcionários dos Serviços de Inspeção (SIM e SIE) e responsabilidade técnica dos estabelecimentos. Serão realizadas por uma técnica de laboratório. O sangue será coletado em tubos a vácuo de 8 ml previamente identificados. Em seguida, será acondicionado adequadamente e encaminhado para o Laboratório de Doenças Infecciosas do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA; paralelamente, entrevistas serão necessárias no sentido de cruzar os dados. Para participar desta pesquisa, você deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido (a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido (a) pelo pesquisador que irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Você não será identificado em nenhuma publicação. O resultado estará à sua disposição quando

finalizada. O pesquisador tratará a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resolução Nº 466/ do Conselho Nacional de Saúde), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Eu, _____, portador (a) do documento de Identidade _____, fui informado (a) dos objetivos da presente pesquisa, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações. Declaro que concordo em participar dessa pesquisa. Recebi o termo de consentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

São Luís, MA, __ de ____ de 2017.

Assinatura do Entrevistado _____.

Assinatura do Pesquisador _____.

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

- 1)- Comitê de Ética em Pesquisa – UEMA, Telefone/ Fax: (99) 3521-3938. Endereço: Tv. Quininha Pires, 105, Centro, Caxias – MA.
- 2)- Alexandra Evangelista Fernandes– Pesquisador Principal (98) 98404-2757. Endereço: Rua 10 de Novembro, 33-A, Cidade Nova, Bacabeira – MA.

Informamos que este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE será impresso em duas vias, sendo uma delas de posse do participante e a outra do pesquisador.

REGISTRO NO SISTEMA DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP/CONEP**DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: BRUCELOSE HUMANA: UMA CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DESTA ZONOSE EM FUNCIONÁRIOS DO GRUPO OCUPACIONAL DE ABATEDOUROS FRIGORÍFICOS COM SERVIÇOS DE INSPEÇÃO MUNICIPAL (S.I.M.) E ESTADUAL (S.I.E.) NO ESTADO DO MARANHÃO

Pesquisador Responsável: ALEXANDRA EVANGELISTA FERNANDES

Área Temática:

Versão: 1

CAAE:

Submetido em: 05/06/2017

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO

Situação da Versão do Projeto: Pendência Documental Emitida pelo CEP

Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

**APÊNDICE C****QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO – BRUCELOSE**

Data:

1- Nome:

2- Idade:

3- 3- Sexo:

4- Tempo de trabalho em matadouro/matadouro-frigorífico:

5- Setor:

Hábitos higiênicos

6- Lava as mãos antes das refeições?

() Sim () Não

7- Lava as mãos após usar o banheiro?

() Sim () Não

Hábitos alimentares

8- Ingere leite in natura?

() Sim () Não

9- Come carne mal passada/cozida?

() Sim () Não

10- Come vegetais? Como é o preparo destes vegetais?

() Sim () Não

Nível de conhecimento sobre a doença e noções de risco

11- Você conhece a brucelose?

() Sim () Não

12- Usa algum EPI (luvas, óculos, gorro, máscara)?

() Sim () Não

13- Aconteceu ou acontece com frequência acidentes de trabalho (corte das mãos, espingo de sangue olhos, boca, nariz, etc.) Quais?

() Sim () Não

14- Você sabe como se adquire a doença?

() Sim () Não

15- Já fez exame de saúde para brucelose?

() Sim () Não

16- Já trabalhou em fazendas?

() Sim () Não

17- Já tirou leite (ordenhou)?

() Sim () Não

18- Já foi vaqueiro?

() Sim () Não

19- Já trabalhou com jardinagem?

() Sim () Não

20- Já teve relação sexual sem proteção (camisinha)?

() Sim () Não

21- Já teve febre? Com qual intervalo? () Sim () Não

22- Dores nas articulações? () Sim () Não

23- Sudorese excessiva com suor ativo? () Sim () Não

24- Inflamação dos testículos? () Sim () Não

25- Cansaço por algum tipo de esforço físico? () Sim () Não

26- Dor de cabeça? () Sim () Não

27- Mal estar? Qual? () Sim () Não

28- Perda de peso? () Sim () Não

Anexo

ANEXO 1- NORMAS DA REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ (RIAL)

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Revista do Instituto Adolfo Lutz (RIAL), iniciada em 1941, é uma publicação trimestral com a missão de divulgar resultados de investigações científicas relacionadas às ações de promoção à saúde, prevenção e controle de agravos e doenças de interesse em saúde pública, além de incentivar a produção de artigos científicos nas áreas de vigilância epidemiológica e sanitária e de proporcionar a atualização e aprimoramento de profissionais da área em âmbito nacional e internacional.

A RIAL é inter e multidisciplinar, arbitrada, aberta a contribuições de autores nacionais e estrangeiros. Publica prioritariamente pesquisas originais com contribuições relevantes na área laboratorial em saúde pública, realizadas com rigor científico e que possam ser replicadas e generalizadas.

Política Editorial

Editada nos formatos impresso e eletrônico, a RIAL tem interesse por trabalhos originais em todas as áreas laboratoriais em saúde pública. São também publicadas outras contribuições inéditas, desde que sobre temas atuais e importantes – revisões de literatura, comunicações breves e notas científicas – além de resumos de teses e dissertações.

Os manuscritos devem destinar-se exclusivamente à RIAL, não sendo permitida sua apresentação simultânea a outro periódico. As contribuições podem ser apresentadas em português ou inglês.

Os manuscritos submetidos são analisados inicialmente pelos editores quanto ao atendimento aos padrões da RIAL e às normas para o envio dos originais. Aqueles manuscritos selecionados são encaminhados para avaliação por pares externos de área pertinente, sempre de instituições distintas àquela da origem do manuscrito, sendo garantido o anonimato e a confidencialidade durante todo o processo de avaliação. Após receber os pareceres, o Corpo Editorial, que detém a decisão final sobre a publicação ou não do texto, avalia a aceitação do texto sem modificações, a recusa ou a devolução ao autor com as sugestões apontadas pelos relatores.

Os manuscritos submetidos devem atender à política editorial da RIAL e às Instruções aos Autores, que seguem os *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication* (<http://www.icmje.org>), além dos critérios éticos da pesquisa humana e animal.

Os autores devem explicitar em MÉTODOS que a pesquisa foi conduzida dentro dos padrões exigidos pela Resolução 466 de dezembro de 20 de dezembro de 20 do Ministério da Saúde – Conselho Nacional da Saúde, em caso de ética humana, e pela Lei Federal 11.794 de 08 de outubro de 2008, pela Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos - DBCA de 2013 e pelas Resoluções Normativas N° , N° 13 e N° 14 no caso de experimentação animal. A pesquisa deverá ser aprovada por comissão de ética humana (CEP) reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) – vinculada ao Conselho Nacional de Saúde (CNS), bem como registro dos estudos de ensaios clínicos em base de dados, conforme recomendação aos editores da Lilacs e Scielo, disponíveis em: <http://bvsmodelo.bvsalud.org/site/lilacs/homepage.htm>. No caso de experimentação animal o projeto deverá ser aprovado por Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) reconhecida pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal do Ministério de Ciência e Tecnologia e Inovação (CONCEA). O nome da base de dados, sigla e/ou número do ensaio clínico, assim como o número do processo e o nome da comissão de ética que aprovou o projeto, deverão ser colocados ao final do RESUMO. Nos casos de ensaios envolvendo animais, estes deverão atender a Lei Federal 9605 contra crimes ambientais, a Lei federal 6638/76 e a Lei 11.794/08, que normatiza a utilização de animais em pesquisa científica. Os autores deverão ter

em seu poder todos os documentos referentes a este procedimento, que poderão ser solicitados em qualquer momento pelos editores. Os autores serão responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros, de interesse comercial e/ou associativo, relacionados ao material de trabalho ou outros que possam influenciá-los, apresentando uma declaração sobre a existência ou não de tais conflitos. Os relatores também devem revelar aos editores qualquer conflito que possa influir ou impedir as suas avaliações.

Os manuscritos publicados são de propriedade da RIAL. A transferência de direitos autorais será solicitada após a aprovação do manuscrito para publicação.

Informações Gerais

Os manuscritos submetidos à publicação na RIAL devem ser apresentados de acordo com as Instruções aos Autores.

São aceitos manuscritos nos idiomas: português e inglês.

O manuscrito deve ser encaminhado em formato eletrônico (e-mail) ou impresso, aos cuidados do editor-chefe da RIAL, no seguinte endereço:

Revista do Instituto Adolfo Lutz (RIAL)

Núcleo de Acervo

Av. Dr. Arnaldo, 355 - Cerqueira César - São Paulo - SP - Brasil - CEP: 046-902

Ou por meio eletrônico em rial@saude.sp.gov.br

Pormenores sobre os itens exigidos para apresentação do manuscrito estão descritos a seguir.

1. Categoria de Artigos

1.1 Artigos Originais: Incluem estudos relacionados à prevenção e controle de agravos e à promoção à saúde. Devem ser baseados em novos dados ou perspectivas relevantes para saúde pública. Cada artigo deve conter objetivos e hipóteses claras, desenho e métodos utilizados, resultados, discussão e conclusões.

Informações Complementares:

Devem ter até 20 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.

As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 05 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas.

Devem ser apresentadas em arquivo separado.

As referências bibliográficas, limitadas a 40, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.

Os resumos em português e em inglês (abstract) devem ter até 200 palavras, com a indicação de 3 a 6 palavras-chave (key-words).

A estrutura dos artigos originais de pesquisa é a convencional: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusão, embora outros formatos possam ser aceitos, mas respeitando a lógica da estrutura de artigos científicos.

1.2 Artigos de Revisão: Dedicados à apresentação e à discussão de temas de interesse científico e de relevância para a saúde pública. Devem apresentar formulação clara de um objeto científico de interesse, argumentação lógica, crítica teórico-metodológica dos trabalhos consultados e síntese conclusiva. Devem ser elaborados por pesquisadores com experiência no campo em questão ou por especialistas de reconhecido saber.

Informações complementares:

Devem ter até 25 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.

As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 03 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas.

Devem ser apresentadas em arquivo separado.

As referências bibliográficas, limitadas a 50, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.

Os resumos em português e em inglês (abstract) devem ter até 200 palavras, com a indicação de 3 a 6 palavras-chave (key-words).

1.3 Comunicações Breves: São relatos sucintos destinados à rápida divulgação de eventos significativos no campo da pesquisa de interesse em saúde pública e que não comportam uma análise mais abrangente.

Informações complementares:

Devem ter até 10 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.

As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 02 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas.

Devem ser apresentadas em arquivo separado.

As referências bibliográficas, limitadas a 15, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.

Os resumos em português e em inglês (abstract) devem ter até 200 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (key-words).

Sua apresentação deve acompanhar as mesmas normas exigidas para artigos originais.

1.4 Notas Científicas: São relatos sucintos destinados à rápida divulgação de eventos relevantes de uma pesquisa experimental que justifique a publicação de resultados parciais.

Informações complementares:

Devem ter até 06 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.

As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 02 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas.

Devem ser apresentadas em arquivo separado.

As referências bibliográficas, limitadas a 10, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.

Os resumos em português e em inglês (abstract) devem ter até 200 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (key-words).

Sua apresentação deve acompanhar as mesmas normas exigidas para artigos originais, porém na forma de texto único.

1.5 Relatos de Caso: São textos que contemplam principalmente a área médica, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Informações complementares: Devem ter até 03 laudas impressas, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.

As tabelas, figuras, gráficos e fotos, limitadas a 02 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas.

Devem ser apresentadas em arquivo separado.

As referências bibliográficas, limitadas a 10, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas.

Os resumos em português e em inglês (abstract) devem ter até 200 palavras e deve ter entre 3 a 6 palavras-chave (key-words).

Devem apresentar Introdução, Relato de caso, Discussão e Conclusão, na forma de texto único.

1.6 Resumos de Teses e Dissertações: São aceitos resumos de teses e dissertações até um ano após a defesa.

Informações complementares:

Devem ter até 400 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (key-words).

Sua apresentação deve conter o nome do autor e do orientador, título do trabalho em português e em inglês, nome da instituição em que foi apresentado, área de concentração e ano da defesa.

2. Apresentação do manuscrito: Os textos devem ser redigidos em processador de texto Word for Windows 2003 ou compatível, no formato A4, espaço duplo, fonte Times New Roman, tamanho . Devem ser evitados arquivos compactados. A estrutura do manuscrito deve estar em conformidade com as normas do Sistema Vancouver – Título; Autores e Instituições; Resumo e Abstract; Introdução; Material e Métodos; Resultados; Discussão; Conclusão; Agradecimentos; Referências; Tabelas; Figuras e Fotografias.

2.1 Página de Identificação: Deve constar:

Título em português e em inglês: O título deve ser conciso, completo e conter informações. Se o manuscrito for submetido em inglês, deve ser fornecido um título em português.

Autores: De acordo com o International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), são considerados autores aqueles que contribuíram substancialmente para a concepção e planejamento, ou análise e interpretação dos dados; contribuíram significativamente na elaboração do rascunho ou na revisão crítica do conteúdo e participaram da aprovação da versão final do mesmo. Somente a aquisição de financiamento, a coleta de dados ou supervisão geral de grupos de pesquisa não justificam autoria – maiores esclarecimentos sobre autoria podem ser encontrados na página do ICMJE (<http://www.icjme.org>). Deve constar o nome completo, sem abreviações e com último sobrenome em caixa alta (exemplo: Ana Maria Camargo da SILVA) e o e-mail do autor responsável. O autor responsável para troca de

correspondência deve estar assinalado com asterisco (*) e apresentar também o endereço completo.

Afiliação: Deve ser indicada a instituição à qual cada autor está afiliado, na seguinte ordem de hierarquias institucionais de afiliação: laboratório, setor, seção, serviço, divisão, departamento, instituto, faculdade e universidade.

Financiamento da pesquisa: Se a pesquisa foi subvencionada, indicar o tipo de auxílio, o nome da agência financiadora e o respectivo número do processo.

Apresentação prévia: Quando baseado em tese ou dissertação, indicar o nome do autor, título, ano, nome do programa de pós-graduação e instituição onde foi apresentada. Quando apresentado em evento científico, indicar o nome do evento, local e ano da realização.

2.2 Preparo do manuscrito:

Resumo/Abstract: Todos os textos deverão ter resumos em português e inglês, dimensionados para ter até 200 palavras. Como regra geral, o resumo deve incluir objetivos do estudo, principais procedimentos metodológicos, principais resultados e conclusões.

Palavras-chave/key-words: Devem ser indicados entre 3 a 6 descritores do conteúdo, extraídos do vocabulário Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) da Bireme (disponível em <http://www.bireme.br>) nos idiomas português e inglês. Em inglês, com base no Medical Subject Headings (MeSH).

Caso não sejam encontrados descritores adequados para a temática do manuscrito, poderão ser indicados termos não existentes nos conjuntos citados.

Estrutura do texto:

A) Introdução: Deve ser breve, relatando o contexto e a justificativa do estudo, apoiados em referências pertinentes ao objetivo do manuscrito, sintetizando a importância e destacando as lacunas do conhecimento abordadas. Não deve incluir dados ou conclusões do estudo em referência

B) Material e Métodos: Os procedimentos adotados devem ser descritos claramente, bem como as variáveis analisadas, com a respectiva definição, quando necessária, e a hipótese a ser testada. Devem ser descritas a população e a amostra, instrumentos de medida, com a apresentação, se possível, de medidas de validade e conter informações sobre a coleta e processamento de dados. Deve ser incluída a devida referência para os métodos e técnicas empregados, inclusive os métodos estatísticos; métodos novos ou substancialmente modificados devem ser descritos, justificando as razões para seu uso e mencionando suas limitações.

Os critérios éticos da pesquisa devem ser respeitados; os autores devem explicitar que a pesquisa foi conduzida dentro de padrões éticos e foi aprovada por comitê de ética, indicando o nome do comitê de ética, número e data do registro.

C) Resultados: Devem ser apresentados em uma sequência lógica, iniciando-se com a descrição dos dados mais importantes. Tabelas e figuras devem ser restritas àquelas necessárias para argumentação e a descrição dos dados no texto deve ser restrita aos mais importantes. Os gráficos devem ser utilizados para destacar os resultados mais relevantes e resumir relações complexas. Dados em gráficos e tabelas não devem ser duplicados nem repetidos no texto. Os resultados numéricos devem especificar os métodos estatísticos utilizados na análise.

D) Discussão: A partir dos dados obtidos e resultados alcançados, os novos e importantes aspectos observados devem ser interpretados à luz da literatura científica e das teorias existentes no campo. Argumentos e provas baseadas em comunicação de caráter pessoal ou divulgadas em documentos restritos não podem servir de apoio às argumentações do autor. Tanto as limitações do trabalho quanto suas implicações para futuras pesquisas devem ser esclarecidas. Incluir somente hipóteses e generalizações baseadas nos dados do trabalho. As conclusões podem finalizar esta parte, retomando o objetivo do trabalho ou serem apresentadas em item separado.

E) Agradecimentos: Este item é opcional e pode ser utilizado para mencionar os nomes de pessoas que, embora não preencham os requisitos de autoria, prestaram colaboração ao trabalho. Será preciso explicitar o motivo do agradecimento, por exemplo, consultoria científica, revisão crítica do manuscrito, coleta de dados etc. Deve haver permissão expressa dos nomeados e o autor responsável deve anexar a Declaração de Responsabilidade pelos Agradecimentos. Também pode constar desta parte apoio logístico de instituições.

2.3 Citação no texto: A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores. Devem ser indicadas pelo seu número na listagem, na forma de expoente, sem uso de parênteses, colchetes e similares. Nos casos em que há citação do nome do autor, o número da referência deve ser colocado a seguir do nome do autor. Trabalhos com dois autores devem fazer referência aos dois autores ligados por “e”. Nos outros casos apresentar apenas o primeiro autor (seguido de et al, em caso de autoria múltipla).

Exemplos: Nos Estados Unidos e Canadá, a obrigatoriedade da declaração dos nutrientes no rótulo do alimento é mais antiga e foram desenvolvidos métodos hidrolíticos, como o AOAC 996.06₁, de extração e determinação da GT por cálculo a partir dos AG obtidos por cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (GC/DIC)_{2,3}. Segundo Chang et al₃₁, o aumento do tamanho das partículas resulta numa redução da área de superfície conferindo uma melhora na retenção e estabilidade das mesmas.

2.4 Referências: Listadas ao final do texto, devem respeitar a quantidade definida para cada categoria de artigos aceitos pela RIAL. As referências devem ser normalizadas de acordo com o estilo Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication, numeradas consecutivamente na ordem em que foram mencionadas a primeira vez no texto. Os títulos de periódicos devem ser referidos de forma abreviada, de acordo com o Medline, disponível no endereço <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journals>. Para consultar periódicos nacionais e latino-americanos: <http://portal.revistas.bvs.br/main.php?home=true&lang=pt>.

No caso de publicações com até seis autores, citam-se todos; acima de seis, citam-se os seis primeiros, seguidos da expressão latina “et al”. Referências de um mesmo autor devem ser organizadas em ordem cronológica crescente.

Exemplos:

Artigos de periódicos:

Aued-Pimentel S, Zenebon O. Lipídios totais e ácidos graxos na informação nutricional do rótulo dos alimentos embalados: aspectos sobre legislação e quantificação. Rev Inst Adolfo Lutz. 2009;68(2):1-6.

Weihrauch JL, Posati LP, Anderson BA, Exler J. Lipid conversion factors for calculating fatty acids contents of foods. J Am Oil Chem Soc. 1977;54:36-40.

Hennington EA. Acolhimento como prática interdisciplinar num programa de extensão. Cad Saude Coletiva [Internet]. 2005;21(1):256-65. Disponível em: [http://www.scielo.br/pdf/csp/v21n1/28.pdf].

Livros:

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2ª ed. Albany (NY):Delmar Publishers;1996.

Lopez D, organizador. Estudos epidemiológicos qualitativos. São Paulo: James Martim; 2009.

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington (DC): The Institute; 1992.

Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer. Washington: National Academy Press 2001[acesso 2003 Jul 13]. Disponível em: [http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10149].

Capítulos de livro:

Wirh L. História da Epidemiologia. In: Lopez D, organizador. Estudos epidemiológicos qualitativos. São Paulo: James Martim; 2009.p.64-76.

Dissertações, teses e monografias:

Santos EP. Estabilidade química da manteiga da terra [dissertação de mestrado]. Bananeiras (PB): Universidade Federal da Paraíba; 1995.

Moreschi ECP. Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos e avaliação da estabilidade de vitaminas hidrossolúveis em alimentos [tese de doutorado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2006.

Trabalhos de congressos, simpósios, encontros, seminários e outros:

Barboza et al. Descentralização das políticas públicas em DST/AIDS no Estado de São Paulo. III Encontro do Programa de Pós-Graduação em Infecções e Saúde Pública; agosto de 2004; São Paulo: Rev Inst Adolfo Lutz. p. 34 [resumo 32-SC].

Dados eletrônicos:

Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo – SABESP. O que fazemos/Qualidade da água. [acesso 2008 Set 17]. Disponível em: [http://www.sabesp.com.br/CalandraWeb/CalandraRedirect/?temp=4&proj=sabesp&pub=T&db=&doc].

Legislação:

Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº , de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial [da Republica Federativa do Brasil. Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, nº7-E. p.45-53.

Autoria institucional:

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo - Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4ª ed. [1ª ed. digital]. São Paulo (SP): Instituto Adolfo Lutz; 2008. Disponível em:

[http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=7&func=select&orderby=1&Itemid=7].

Organización Mundial de la Salud – OMS. Como investigar el uso de medicamentos em los servicios de salud. Indicadores seleccionados del uso de medicamentos. Ginebra; 1993. (DAP. 93.1).

Patente:

Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors: Novoste Corporation, assignee. Methods for procedures related to eletrophysiology of the heart. US patent 5,529,067. 1995 Jun 25.

Casos não contemplados nesta instrução devem ser citados conforme indicação do Committee of Medical Journals Editors (Grupo Vancouver), disponível em: <http://www.cmje.org>. Referências a documentos não indexados na literatura científica mundial, em geral de divulgação circunscrita a uma instituição ou a um evento (teses, relatórios de pesquisa, comunicações em eventos, dentre outros) e informações extraídas de documentos eletrônicos, não mantidas permanentemente em sites, se relevantes, devem figurar no rodapé das páginas do texto onde foram citadas.

2.5 Números de figuras e tabelas: A quantidade de figuras e tabelas de cada manuscrito deve respeitar a quantidade definida para cada categoria de artigos aceitos pela RIAL. Todos os elementos gráficos ou tabulares apresentados serão identificados como figura ou tabela, e numerados sequencialmente a partir de um, e não como quadros, gráficos etc.

A) Tabelas: Devem ser redigidas em processador de texto Word for Windows 2003 ou compatível e serem apresentadas em arquivos separados, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. A cada uma deve-se atribuir um título breve, não se utilizando traços internos horizontais ou verticais. As notas explicativas devem ser limitadas ao menor número possível e colocadas no rodapé das tabelas e não no cabeçalho ou título. Se houver tabela extraída de outro trabalho, previamente publicado, os autores devem solicitar formalmente autorização da revista que a publicou, para sua reprodução.

B) Figuras: As ilustrações (fotografias, desenhos, gráficos etc.) devem ser citadas como Figuras, apresentadas em arquivos separados e numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na ordem em que foram citadas no texto. Devem conter título e legenda apresentados na parte inferior da figura. Só serão admitidas para publicação figuras suficientemente claras e com qualidade digital que permitam sua impressão, preferencialmente no formato vetorial. No formato JPEG, a resolução mínima deve ser de 300 dpi. Figuras em cores serão publicadas quando for necessária à clareza da informação e os custos deverão ser cobertos pelos autores. Se houver figura extraída de outro trabalho, previamente publicado, os autores devem solicitar autorização, por escrito, para sua reprodução.

3. Declarações e documentos solicitados: Em conformidade com as diretrizes do International Committee of Medical Journal Editors, são solicitados alguns documentos e declarações do(s) autor(es) para a avaliação de seu manuscrito. Observe a relação dos documentos abaixo e, nos casos em que se aplique, anexe o documento ao processo. O momento em que tais documentos serão solicitados é variável:

Documento/declaração Quem assina Quando anexar

Carta de Apresentação Todos Submissão

Responsabilidade pelos Agradecimentos Autor responsável Aprovação

Transferência de Direitos Autorais Todos Aprovação

A carta de Apresentação do manuscrito, assinada por todos os autores, deve conter:

Um parágrafo declarando a responsabilidade de cada autor: ter contribuído substancialmente para a concepção e planejamento ou análise e interpretação dos dados; ter contribuído significativamente na elaboração do rascunho ou na revisão crítica do conteúdo; e ter participado da aprovação da versão final do manuscrito. Para maiores informações sobre critérios de autoria, consulte a página do ICMJE (<http://www.icjme.org>).

Um parágrafo contendo a declaração de potenciais conflitos de interesses dos autores.

Um parágrafo contendo a declaração que o trabalho não foi publicado, parcial ou integralmente, em outro periódico. Todos os autores devem ler, assinar e enviar documento transferindo os direitos autorais. O artigo só será liberado para publicação quando esse documento estiver de posse da RIAL.

4. Verificação dos itens exigidos na submissão:

1. Nome e instituição de afiliação de cada autor, incluindo e-mail e telefone do autor responsável.
2. Título do manuscrito, em português e inglês.
3. Texto apresentado em letras Times New Roman, corpo , em formato Word ou similar (doc, txt, rtf).
4. Resumos em dois idiomas, um deles obrigatoriamente em inglês.
5. Carta de Apresentação assinada por todos os autores.
6. Nome da agência financiadora e número(s) do processo(s).
7. No caso de artigo baseado em tese/dissertação, indicar o nome da instituição/Programa, grau e o ano de defesa.
8. Referências normalizadas segundo estilo Vancouver, ordenadas pela citação no texto e numeradas, e se todas estão citadas no texto.
9. Tabelas numeradas sequencialmente, com título e notas, e no máximo com colunas, em formato Word ou similar (doc, txt, rtf).
10. Figura no formato vetorial ou em pdf, ou tif, ou jpeg ou bmp, com resolução mínima 300 dpi.

5. Revisão da redação científica: Para ser publicado, o manuscrito aprovado é submetido à revisão da redação científica, gramatical e de estilo. A RIAL se reserva o direito de introduzir alterações nos originais, visando a manutenção da homogeneidade e qualidade da publicação, respeitando, porém, o estilo e as opiniões dos autores.

Inclusive a versão em inglês do artigo terá esta etapa de revisão.

6. Provas: Após sua aprovação pelos editores, o manuscrito será revisado quanto à redação científica. O autor responsável pela correspondência receberá as provas gráficas para revisão por correio eletrônico em formato pdf (portable document format). O prazo máximo para a revisão da prova é de dois dias. É importante cumprir os prazos de revisão para garantir a publicação no fascículo programado. Atrasos nesta fase poderão resultar em remanejamento do artigo para fascículos subsequentes.

7. Publicação e distribuição: Os artigos serão publicados em ordem cronológica de aprovação. As datas de recebimento e de aprovação do artigo constarão obrigatoriamente no mesmo.

É permitida a reprodução, no todo ou em parte, de artigos publicados na RIAL, desde que sejam indicados a origem e o nome do autor, de conformidade com a legislação sobre os direitos autorais.

A Revista do Instituto Adolfo Lutz é distribuída gratuitamente a entidades governamentais, culturais ou em permuta de periódicos nacionais ou estrangeiros.