

## OCORRÊNCIA DA *Brucella canis* e *Brucella abortus* EM CÃES CRIADOS NO ESTADO DO PARÁ<sup>1</sup>

Mara R. CARVALHO<sup>2</sup>

László MOLNÁR<sup>3</sup>

Éva MOLNÁR<sup>4</sup>

Hilma Lúcia T. DIAS<sup>5</sup>

Emilia do Socorro Conceição de LIMA<sup>6</sup>

**RESUMO:** De janeiro de 1997 a julho de 1998, foram examinadas 236 amostras de soros sanguíneos de cães procedentes de residências (104 amostras), abrigos comunitários (40 amostras) e canis comerciais (62 amostras) da cidade de Belém, além de seis fazendas com bovinocultura (30 amostras) provenientes do interior do Estado do Pará, para verificar a ocorrência de cães reagentes a *Brucella canis* e a *Brucella abortus*. Na investigação da presença de anticorpos anti *B. canis* foi utilizada a prova da imunodifusão em gel de ágar (IDAG) e para a *B. abortus* foi realizado o Ensaio Imunoenzimático competitivo (ELISAc). Para a *B. canis* foi encontrada uma positividade de 45,34% (107/236) das amostras e para *B. abortus* 5,93% (14/236). O percentual de soropositividade para *B. canis* foi alto nos três primeiros grupos, mas não se encontrou soropositivos nas amostras provenientes dos cães de fazenda. A elevada ocorrência foi surpreendente, especialmente, em cães de residências: 53,84% (56/104) para *B. canis* e 5,76% (6/104) para *B. abortus*.

**TERMOS PARA INDEXAÇÃO:** Brucelose Canina, *Brucella canis*, *Brucella abortus*, Imunodifusão em Gel de Ágar, ELISA Competitivo.

## OCURRENCE OF *Brucella canis* and *Brucella abortus* IN DOGS OF THE PARÁ STATE

**ABSTRACTS:** 236 samples of canine serum were investigated of dogs originated from residences (104 samples), communal protection of animals (40 samples), commercial kennels (62 samples) of Belém and six farms with bovine breeding (30 samples) for the occurrence of infection with *Brucella canis* and *Brucella abortus*. The immunodiffusion in agar gel for demonstration of antibodies to *B. canis* was used and competitive ELISA for *B. abortus* infection. It was observed 45,34% (107/236) of positive cases for *B. canis* and 5,93% (14/236) for *B. abortus*. The rate of seropositivity to *B. canis* was higher in the three first groups, but it was not found any positive sample in the farm dogs. The high occurrence of seropositivity was surprising, in particular, among the housedogs: 53.84% (56/104) to *B. canis* and 5.76% to *B. abortus*.

**INDEX TERMS:** Canine Brucellosis, *Brucella canis*, *Brucella abortus*, Immundiffusion in Agar Gel, Competitive ELISA.

<sup>1</sup> Aprovado para publicação em 13.11.2000

Trabalho realizado no Laboratório de Investigação e Diagnóstico de Enfermidades Animais, Centro Agropecuário, Universidade Federal do Pará - UFPA.

<sup>2</sup> Médica Veterinária, Bolsista do CNPq.

<sup>3</sup> Médico Veterinário, PhD, Professor Visitante – Centro Agropecuário-UFPA.

<sup>4</sup> Médica Veterinária, PhD, Professora Visitante – Centro Agropecuário-UFPA.

<sup>5</sup> Médica Veterinária, Dra., Bolsista de Desenvolvimento Científico Regional do CNPq – Centro Agropecuário-UFPA.

<sup>6</sup> Médica Veterinária, estagiária do Laboratório de Investigação e Diagnóstico de Enfermidades Animais – Centro Agropecuário-UFPA.



## 1 INTRODUÇÃO

Em cães, as espécies do gênero *Brucella* que podem causar brucelose são a *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* e *B. canis*. A brucelose produzida pelas três primeiras espécies ocorre quando os cães alimentam-se de fetos abortados, placentas de animais infectados ou leite cru. Esse tipo de infecção não ocorre com grande frequência, entretanto, os cães infectados constituem um perigo para outros animais domésticos e para o homem, pois eles eliminam estes microorganismos. Este tipo de brucelose, na maioria das vezes, ocorre nas fazendas onde se criam bovinos, suínos ou caprinos infectados (Szent-Iványi & Mészáros, 1985; Acha & Szyfres, 1986; Allen, 1995). Forbes (1990) demonstrou a infecção por *B. abortus* em 14 cães de fazenda através de técnicas de isolamento e provas sorológicas; o autor ressalta que os cães de fazenda são susceptíveis à infecção por *B. abortus* sob condições de campo. Segundo Mateu de Antonio & Martín (1993), a prevalência da infecção nos cães com brucelas lisas pode atingir 9,2%. No Estado do Pará, foi encontrado um cão soropositivo (4,43%) dentre 23 cães oriundos de fazendas com bovinocultura (Lopes et al., 1999). Por outro lado, em um estudo com 31 cães infectados experimentalmente com *B. abortus*, foi verificado que os mesmos não desenvolveram sinais clínicos com lesões patológicas, e que 11 não soroconverteram, utilizando-se quatro diferentes tipos de aglutinação. Os pesquisadores (Scanlan et al., 1989) acreditam que, além da infecção com o agente, outros fatores, atualmente não conhecidos, são necessários para desenvolver a doença clínica com lesões patológicas.

A brucelose canina é produzida pela *B. canis*. Essa espécie foi descrita pela primeira vez nos Estados Unidos, em 1966 (Carmichael, 1966). Posteriormente, Carmichael & Kenney, (1970); Moore & Gupta, (1970) descreveram as características mais importantes da brucelose canina, tais como: epidemiologia, sinais clínicos, patologia, imunidade, diagnóstico e controle; aspectos estes considerados em trabalhos atuais.

Segundo Moore & Gupta (1970), o cão é a única espécie em que a doença natural por *B. canis* foi diagnosticada. Por outro lado, em estudo experimental foi possível infectar um macaco (*Macaca mulatta*) através da administração oral de *B. canis*. Estudos mais recentes (Carmichael & Shin, 1996) têm evidenciado a infecção natural pela *B. canis* com especificidade para canídeos domésticos e selvagens.

A infecção ocorre através da penetração do agente nas mucosas, e as fontes mais importantes de infecção conhecidas são os corrimentos vaginais, leite, sêmen e urina de machos contaminados (Carmichael & Bruner, 1968) e infecção congênita (Moore & Gupta, 1970). Os sinais clínicos mais importantes são: abortamento nas duas últimas semanas da gestação, linfadenite, epididimite e atrofia dos testículos. Após a infecção experimental, em uma a três semanas apresenta-se septicemia, sem febre ou qualquer sinal visível, o que permanece durante meses ou até anos (Myers & Varela-Diaz, 1980; Seguin & Higgins, 1980; Carmichael & Shin, 1996).

Com o início da septicemia começa o desenvolvimento de anticorpos aglutinantes que alcançam títulos de 1:800. Após o



período septicêmico, os títulos aglutinantes declinam rapidamente, mas nos animais recuperados desenvolve-se uma forte imunidade. É provável que a imunidade celular assuma grande importância (Carmichael & Kenney, 1970).

Segundo Moore & Gupta (1970), os sinais clínicos anteriormente citados podem referir-se à brucelose canina, contudo, o diagnóstico definitivo desta enfermidade somente é possível através do isolamento do agente ou com a demonstração de anticorpos específicos.

O tratamento com antibióticos e/ou outros quimioterápicos não alcançam resultados satisfatórios a respeito da eliminação total do agente (Carmichael & Bruner, 1968), mas a erradicação é possível com a eliminação dos animais positivos, detectados através de exames sorológicos mensalmente (Moore & Bennett, 1967).

Vários casos humanos foram reportados durante a primeira década após a descoberta da doença em 1966, porém poucas reportagens têm sido publicadas nos últimos 20 anos (Carmichael & Shin, 1996).

Casos de brucelose canina por *B. canis* já foram identificados nas três Américas, na Europa, Ásia e África (Carmichael & Shin, 1996). No Brasil, a existência de infecção em cães por *B. canis* foi confirmada por isolamento do agente (Fernandes et al., 1976/1977; Godoy et al., 1977) e por vários inquéritos sorológicos realizados em algumas cidades da federação. Na cidade de Porto Alegre foi encontrado 11,9% de soropositividade (Wald & Fernandes, 1976/1977); em Belo Horizonte, 1,3% (Godoy et al., 1977); em

São Paulo, 3,6% por Sandoval et al. (1976), 7,5% por Larsson et al. (1981) e 9,1% por Cortes et al. (1988); em Campinas, 5,4% (Germano et al., 1987); no Rio de Janeiro, 29,4% e em Niterói, 19,2% (Maia et al., 1999). As técnicas utilizadas nestas pesquisas foram a soroaglutinação rápida ou lenta, com e sem 2-mercaptopetanol e a IDAG.

Uma vez que os dados sobre a brucelose canina no Estado do Pará são escassos, o objetivo do presente trabalho foi demonstrar a existência da infecção por *B. canis* e *B. abortus* em cães da cidade de Belém e de seis fazendas do Estado do Pará.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 236 cães procedentes de residências (104 amostras), de abrigos comunitários (40 amostras), canis comerciais (62 amostras) e de fazendas com bovinocultura (30 amostras), no período de janeiro de 1997 a julho de 1998. As amostras de sangue foram colhidas assepticamente da veia safena ou radial em volume de 5 mL/animal. Após a retenção do coágulo, o soro sanguíneo foi centrifugado a 1 000 rpm durante 10 minutos e, a seguir, armazenado a -20°C até a realização das provas sorológicas.

Todas as amostras foram examinadas com antígenos preparados de *B. ovis* e *B. abortus*. A pesquisa de anticorpos para *B. canis* foi executada mediante o emprego da IDAG, utilizando-se antígeno rugoso (*B. ovis*) produzido pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). Para a demonstração de anticorpos para *B. abortus* foi utilizado um kit de ELISAc (SVANOVA).



A prova IDAG foi executada segundo a indicação da firma produtora (TECPAR), porém este teste foi realizado segundo Tekes et al. (1984). Foram analisadas 60 amostras em cada placa de Petri de 9cm de diâmetro, com os soros a testar tendo contato direto com os poços preenchidos com antígeno e com os contendo soro controle positivo.

No caso do ELISA competitivo, foi utilizado um kit comercial (SVANOVA) com as seguintes características: as placas de poliestireno estavam sensibilizadas com antígeno S-LPS de *B. abortus*, os soros controle e os soros a testes foram diluídos a 1:20 em PBS-Tween, e o anticorpo monoclonal competitivo foi adicionado; procedeu-se por 30 minutos incubação em agitador orbital. As placas foram submetidas a quatro lavagens em tampão PBS-Tween, e foi acrescentado o conjugado (Goat anti-mouse IgG / HRPO), procedendo-se outra incubação e lavagem. Finalmente, adicionou-se o cromógeno/substrato que reagiu durante 10 minutos, sendo a reação colorimétrica formada bloqueada com uma

solução de  $H_2SO_4$  2M. Os valores de absorvância foram determinados utilizando-se espectrofotômetro (Immunoscan BDSL), com filtro 450 nm. As amostras com absorvância maior ou menor ao cut-off (PP=30) foram consideradas positivas e negativas, respectivamente.

### 3 RESULTADOS

Os resultados obtidos nos exames estão resumidos na Tabela 1. A ocorrência da brucelose canina por *B. canis* foi muito alta nos cães da cidade de Belém (51,94%; 107/206) e este tipo de infecção não foi detectada nos cães oriundos das seis fazendas. A proporção de positivos foi alta em todos os três grupos de animais da cidade, entretanto, a ocorrência de soropositividade nos animais provindos de residências foi surpreendentemente alta (53,84%; 56/104).

A ocorrência da soropositividade para *B. abortus*, utilizando o teste de ELISA competitivo, foi significativamente mais baixa, entretanto, nos grupos de abrigo (10%; 4/40) e fazendas (10%; 3/30) a

Tabela 1 - Distribuição dos cães soropositivos para *B. canis* de acordo com a prova de IDAG e para *B. abortus* pelo ELISA competitivo, em animais oriundos da cidade de Belém e de seis fazendas com bovinocultura.

Origem	Examinadas	Positivas			
		B. canis (IDAG)		B. abortus (ELISAc)	
		Nº	%	Nº	%
Residência	104	56	53,84	6	5,76
Abrigo	40	26	65,00	4	10,00
Canis comerciais	62	25	40,32	1	1,61
Fazendas	30	-	-	3	10,00
Amostras	236	107	45,34	14	5,93

Nota: Sinal Convencional Utilizado:

- Dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento.



trabalho, como animais criados em residências, em abrigos comunitários, em canis comerciais e em fazendas. Os animais de abrigo apresentaram maior incidência nas infecções de *B. canis* e *B. abortus* (65,0%; 26/40 e 10,0%; 4/40, respectivamente). Isto se deve ao fato do estreito contato entre esses animais, em que cães de todas as idades e ambos os sexos convivem juntos. Um outro fator é que a grande maioria desses abrigos possui estrutura higiênico-sanitária inadequada, com animais apresentando condições clínicas variadas, ocorrências de aborto, orquites e promiscuidades, logo, a convivência em contato direto durante meses e até anos facilita a transmissão da infecção entre eles.

Embora os cães criados em residências e em canis comerciais tenham apresentado incidência da infecção um pouco menor em relação aos outros, a alta ocorrência da soropositividade nestes grupos é ainda mais surpreendente. Para explicar isso, não se pode descartar a hipótese de que os cães domiciliados não permanecem sempre nas residências, portanto os mesmos podem entrar em contato com outros cães, mesmo que acidentalmente. Quanto aos cães de canis que são criados especialmente para fins reprodutivos e comerciais, infelizmente, ainda não é prática dos criadores exigirem atestado de brucelose antes de comprarem um animal e, sendo muito comum, a transmissão venérea dessa doença se dá facilmente.

## 5 CONCLUSÃO

Os resultados da pesquisa revelaram elevada ocorrência da brucelose canina no Estado do Pará, em particular na cidade de Belém, servindo de alerta às autoridades

sanitárias, médicos veterinários, criadores e para a população em geral.

Há necessidade de maiores estudos, incluindo o uso de outras provas sorológicas, analisando, principalmente, a especificidade e a sensibilidade das técnicas para, a partir disso, implantar uma rotina de diagnóstico da brucelose canina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA, P.N.; SZYFRES, B. *Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales*. 2. ed. Washington, D.C.: Organization Panamericana de la Salud, 1986 (Publicacion Científica, 503).
- ALLEN, W.E. *Fertilidade e obstetrícia no cão*. São Paulo: Varela, 1995.
- CARMICHAEL, L.E. Abortion in 200 beagles. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 149, p. 1126, 1966.
- \_\_\_\_\_; BRUNER, D. W. Characterisation of a newly recognised species of *Brucella* responsible for infectious canine abortions. *Cornell Vet.*, v. 58, p. 579-592, 1968.
- \_\_\_\_\_; KENNEY, R.M. Canine brucellosis: the clinical disease, pathogenesis and immune response. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 156, n. 12, p. 1726-1753, 1970.
- \_\_\_\_\_; SHIN, S.J. Canine brucellosis: a diagnostician's dilemma. *Vet. Med. Sur. (Small Anim.)*, v. 11, n. 3, p. 161-165, 1996.
- CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*. 2. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p. 195.
- CORTES, V.A.; OLIVEIRA, M.C.G.; ITO, F.H.; VASCONCELLOS, S.A. Reações sorológicas para *Brucella canis* em cães errantes capturados na proximidade dos parques públicos, reservas florestais e em áreas periféricas do município de São Paulo – Brasil. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP*, v. 25, n. 1, p. 101-107, 1988.



- FERNANDES, J.C.T.; WALD, V.B.; JOBIM, G.B. Isolamento de *Brucella canis* do humor aquoso de um cão com lesões oculares. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, v. 4/5, p. 109-113, 1976/1977.
- FLORES-CASTRO, R.; SEGURA, R. A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in Mexico. *Cornell Vet.*, v. 66, p. 347-352, 1976.
- FONSECA, L.S.; MOLNÁR, É.; MOLNÁR, L.; LIMA, E.S.C. Prevalência de brucelose em diferentes grupos populacionais da cidade de Belém – Pa. *Revista Paraense de Medicina*, v. 13, n. 2, p. 23-28, 1999.
- FORBES, L.B. *Brucella abortus* infection in 14 farm dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 196, p. 911-916, 1990.
- GERMANO, P.M. L.; VASCONCELLOS, S. A.; ISHIZUKA, M.M.; PASSOS, E.C.; ERBOLATO, E.B. Prevalência de infecção por *Brucella canis* em cães da cidade de Campinas – SP, Brasil. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP*, v. 24, n. 1, p. 27-34, 1987.
- GODOY, A.M.; PERES, J.N.; BARG, L. Isolamento de *Brucella canis* em Minas Gerais, Brasil. *Arquivos da Escola Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*, v. 29, n. 1, p. 35-42, 1977.
- LARSSON, M.H.M.A.; LARSSON, C.E.; MIRANDOLA, R.M.S.; YASUDA, P.H.; GRUTOLLA, G. Canine brucellosis in São Paulo: serologic survey of kennel and stray dogs. *Int. J. Zoonoses*, v. 8, n. 1, p. 85-90, 1981.
- LAUDENCIA, R.L.; ROVIRA, H.G. A serologic survey of *Brucella canis* agglutinins in various dog populations in Manilla, Philippines. *Journal of Veterinary Medicine*, v. 18, n. 2, p. 63-78, 1979.
- LOPES, C.F.A.; MOLNÁR, L.; MOLNÁR, É. Avaliação soroepidemiológica da brucelose em animais e humanos procedentes da zona Bragantina no Estado do Pará – Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 23, n. 3, p. 429-431, 1999.
- MAIA, G. R.; ROSSI, C.R.S.; ABBADIA, F.; VIEIRA, D.K.; MORAES, I.A. Prevalência da brucelose canina nas cidades do Rio de Janeiro e Niterói, – RJ. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 23, n. 3, p. 425-427, 1999.
- MATEU DE ANTONIO, E.M.; MARTIN, M. Encuesta soroepidemiológica frente a *Brucella canis* y brucelas de tipo liso en perros. *Medicina Veterinária*, v. 10, p. 241-246, 1993.
- ; DELGADO, S.; MARTIN, M.; CASAL, J.; CARMENES, P. *Brucella* infections in dogs of Spain. *Revista de Medicina Veterinária*, v. 174, n.1/2, p. 6-10, 1998.
- MOLNÁR, É.; MOLNÁR, L. Prevalence of bovine brucellosis in Amazon Region. Value of different serological tests in this region. In: SIPAR FOLLOW-UP SEMINAR ON ANIMAL REPRODUCTION AND BIOTECHNOLOGY FOR LATIN AMERICA, 4.
- MOORE, J.A.; BENNETT, M. A previously undescribed organism associated with canine abortion. *Veterinary Record*, v. 80, p. 604-605, 1967.
- ; GUPTA, B.N. Epizootiology, diagnosis and control of *Brucella canis*. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 156, n. 2, p. 1737-1740, 1970.
- MYERS, D.M.; VARELA-DIAZ, V.M. Serological and bacteriological detection of *Brucella canis* infection of stray dogs in Moreno, Argentina. *Cornell Vet.* v. 70, n. 3, p. 258-265, 1980.
- SANDOVAL, L.A.; RIBEIRO, L.O.C.; AMARAL, L.B.S.; FEITOSA, M.H.; BAZAN, J.M. Incidência da brucelose canina na cidade de São Paulo. *O Biológico*, São Paulo, v. 42, p. 128-132, 1976.

SCANLAN, C.M.; PIDGEON, G.E.; RICHARDSON, B.E.; BUENING, G.M.; KEMPPAINEN, R.J. Experimental infection of dogs with *Brucella abortus*: effect of exposure dose on serologic responses and comparison of culture methods. *Cornell Vet.*, v. 79, n. 93-107, 1989.

SEGUIN, P.; HIGGINS, R. La brucelose canina. *Med. Vet. Quebec*, v. 10, n. 1, p. 2-5, 1980.

SZENT-IVÁNYI, T.; MÉSZÁROS, J. *Infectious diseases of domestic animals (in Hungarian)*. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, 1985. p. 194-216.

TEKES, L.; MÁTÉ, ZS.; RUSZKA, GY. A serological survey on the distribution of leucosis in different cattle breeds in Hungary (In Hungarian, with English abstract). *Magyar Áo. Lapja*, v. 39, p. 202-204, 1984.

WALD, V.B.; FERNANDES, J.C.T. Serologia da brucelose canina no municipio de Porto Alegre, RS. *Arquivos da Faculdade Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, v. 4/5, p. 92-95, 1976/77.