

## Pesquisa de anticorpos anti-*brucella canis* em cães provenientes da região metropolitana de Salvador

*Survey of anti-brucella canis antibodies in dogs from the metropolitan region of Salvador*

CAVALCANTI, L. A.<sup>1\*</sup>; DASSO, M. G.<sup>2</sup>; OLIVEIRA, F. C. S.<sup>1</sup>; VIEGAS, S. A. R. A.<sup>3</sup>;  
ALMEIDA, M. G. A. R.<sup>4</sup>; ANUNCIACÃO, A. V. M.<sup>3</sup>; ALCANTARA, A. C.<sup>5</sup>;  
BITTENCOURT, D. V. V.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, E. M. D.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Acadêmica de Medicina Veterinária – UFBA

<sup>2</sup> Pesquisador do Centro de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor-RS

<sup>3</sup> Prof. do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva-MEV-UFBA

<sup>4</sup> Médica Veterinária-HOSPMEV-UFBA

<sup>5</sup> Acadêmico do Mestrado Ciência Animal nos Trópicos-MEV-UFBA

\* Endereço para correspondência: [liliancavalcanti@hotmail.com](mailto:liliancavalcanti@hotmail.com)

### RESUMO

A brucelose canina por *Brucella canis* é uma doença infecto-contagiosa, caracterizada principalmente por abortamentos e esterilidade nas fêmeas, bem como orquite e epididimite nos machos. Além da grande importância econômica para criadores de cães, o caráter zoonótico da brucelose canina também deve ser considerado em virtude da complexa relação da população canina com os seres humanos. Deste modo, com o objetivo de pesquisar anticorpos anti *Brucella canis* em cães residentes na região metropolitana de Salvador, foram analisadas 85 amostras de soro sanguíneo de cães domiciliados, machos e fêmeas, de idade e raças variadas. Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Brucella canis*, foi utilizada a prova de imunodifusão em gel de agarose, com antígeno de membrana de *Brucella ovis* desenvolvido pelo Centro de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor-RS (CPVDF). Os resultados encontrados indicaram uma soropositividade de 5,88% (5/85), demonstrando a presença de anticorpos anti-*Brucella canis* em cães residentes na região metropolitana de Salvador e salientando a importância de maiores estudos relativos à zoonose em questão.

Palavras-chave: *Brucella canis*, brucelose, imunodifusão

### SUMMARY

Canine brucellosis is a contagious infectious disease caused by *Brucella canis* and is characterized by abortions and sterility in females, orchitis and epididymitis in males. In addition to the great economic importance for dog breeders, the zoonotic potential of canine brucellosis also should be considered due to the close relationship between the canine population and humans. The aim of this study was to survey housed dogs in the metropolitan region of Salvador for anti-*Brucella canis* antibodies. Eighty-five serum samples were collected from males and females of various ages and breeds, and were tested by agarose gel immunodiffusion using *Brucella ovis* antigen that was developed by the Finamor Desidério Veterinary Research Center (FDVRC). The results indicated a seropositivity rate of 5.88% (5/85), demonstrating the presence of *Brucella canis* antibodies in dogs from the metropolitan region of Salvador and showing the necessity of further investigations on this zoonosis.

Keywords: *Brucella canis*, brucellosis, immunodiffusion

## INTRODUÇÃO

A brucelose é uma doença infecto-contagiosa crônica, de distribuição mundial e caráter zoonótico, que tem como agente causador a bactéria intracelular do gênero *Brucella* (ACHA e SZYFRES, 1986; CARMICHAEL, 1990; JOHNSON e WALKER, 1992).

Em cães, a brucelose, cujo principal agente etiológico é a *Brucella canis*, foi descrita inicialmente por Carmichael (1966), mediante episódios de abortamento da raça Beagle, em Nova Jersey, nos EUA. Desde então, os isolamentos dessa bactéria foram verificados verificada nas demais Américas, Europa, Ásia e África (CARMICHAEL e SHIN, 1996).

O primeiro relato sobre a confirmação da enfermidade no Brasil ocorreu em Minas Gerais, a partir da soropositividade e isolamento do agente de uma cadela que havia abortado (GODOY et al., 1977).

A brucelose canina é considerada uma doença da esfera reprodutiva, caracterizada principalmente por abortamento e esterilidade, nas fêmeas, e orquite e epididimite, nos machos (CARMICHAEL e GREENE, 1998). Os animais adquirem a infecção, normalmente, pela ingestão ou inalação de aerossóis provenientes de material abortado (CARMICHAEL e JOUBERT, 1988; CARMICHAEL, 1990; CARMICHAEL e GREENE, 1990; JOHNSON e WALKER, 1992).

O diagnóstico clínico da infecção é bastante difícil devido à ausência de sinais específicos e a maioria dos cães ser assintomáticos. Dessa forma, os testes sorológicos, representados pelas provas de soropositividade lenta, soropositividade rápida e a imunodifusão em gel de agarose (IDGA), são os métodos mais comumente utilizados no diagnóstico da doença. A técnica mais empregada no Brasil é a IDGA, em que se utiliza um antígeno lipopolissacarídeo extraído de *Brucella ovis* (MAIA et al., 1999). Ressalta-se, no

entanto, que a confirmação do diagnóstico só é possível mediante o isolamento e identificação do microrganismo (CARMICHAEL e GREENE, 1998).

A brucelose canina tem grande importância não só no contexto da saúde pública, por se tratar de uma zoonose, como também do ponto de vista econômico, por causar prejuízos financeiros aos criadores. Portanto, uma investigação mais aprofundada dessa zoonose deve ser empregada com o intuito de minimizar a disseminação da doença nas populações humanas e animais (CARMICHAEL, 1976).

O objetivo deste estudo foi pesquisar anticorpos anti-*Brucella canis* em cães domiciliados na região metropolitana de Salvador, contribuindo, assim, para um maior conhecimento acerca dessa zoonose.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas 85 amostras de soro sanguíneo de cães provenientes da região metropolitana de Salvador. Os cães testados eram de ambos os sexos, de idade e raças variadas não havendo dados referentes a sinais clínicos, segundo as fichas.

O diagnóstico de *Brucella canis* foi realizado pelo teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA), padronizado com antígenos solúveis de *Brucella ovis*, produzidos pelo Centro de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor (CPVDF), no Rio Grande do Sul. A prova IDGA, executada de acordo com as recomendações do fabricante (CPVDF), foi realizada no Laboratório de Bacterioses da Escola de Medicina Veterinária - UFBA, Salvador, BA.

Inicialmente, foi preparado o gel de agarose utilizando-se uma mistura do tampão borato, com o pH ajustado em 8,3,

ágar Noble e salina a 5%. Durante 15 minutos, essa mistura foi aquecida em banho-maria até completa dissolução, de tal maneira que o gel ficasse translúcido, sendo, em seguida, distribuída nas placas. Nesse experimento foram utilizadas placas de Petri lisas e estéreis de dimensão 90x15 mm, sobre as quais foram depositados 16 mL de ágar quente, deixando-as em temperatura ambiente até a solidificação, e armazenagem a 2-8° por no mínimo 30 minutos e, no máximo, 24 horas. No momento do uso, foram feitos poços no ágar solidificado com um furador apropriado de sete pinos perfurantes, sendo um central e seis periféricos, de tamanhos iguais e equidistantes entre si. Em cada poço foi adicionado, com auxílio de pipetas automáticas, 30µL de antígeno na posição central e igual volume de soro-teste e soros-controle positivos e negativos intercalados nos poços periféricos.

As placas foram acondicionadas em uma câmara úmida e incubadas em temperatura de 25°C até que fossem realizadas as leituras com 24, 48, e 72 horas, utilizando-se sistema de iluminação com luz indireta e fundo escuro. O resultado considerado foi o da leitura de 72 horas.

A interpretação foi efetuada observando-se a formação de linha de precipitação entre soro teste e antígeno, e classificando-se as amostras em reagentes ou não reagentes. O soro, cuja linha de precipitação apresentou identidade com a linha formada pelo soro padrão, foi considerado reagente. O não reagente foi aquele em que não houve formação de linha de precipitação ou a linha formada não apresentou identidade com a do soro padrão.

#### Análise estatística

Para o estudo do sexo e idade associado à soropositividade para *B. canis*, foi realizado o teste exato de Fisher (teste monocaudal) (ZAR, 1998). O nível de significância adotado foi 0,05, utilizando-se o programa SPSS for Windows 10.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 85 amostras de soros de cães examinadas pela prova de IDGA, cinco foram reagentes, resultando em uma soropositividade de 5,88%. Nas tabelas 1 e 2 são apresentados os resultados da análise de associação entre as variáveis sexo e idade com os resultados da IDGA, respectivamente, e, na tabela 3, a frequência de cães reagentes e não reagentes à imunodifusão em gel de agarose para *Brucella canis*, segundo a raça.

O achado de soropositividade para antígenos de *Brucella canis* em cães foi reportado também por Souza et al. (2002) e Almeida et al. (2001) que, em estudos sobre a prevalência da brucelose canina no Estado de Minas Gerais com a técnica de imunodifusão em gel de ágar observaram positividade em 4,8% e 4,9%, respectivamente, dos soros testados. Marassi et al. (2003) encontraram 7,4% de animais reagentes no município do Rio de Janeiro; Azevedo et al. (2003) 2,2%, no município de Santana do Parnaíba e Alves et al. (2003) 3,6% no Estado da Paraíba. Resultados divergentes do encontrado no presente estudo foram relatados por Carvalho et al. (2000) que observaram uma prevalência de 53,84% em cães procedentes de residências, abrigos comunitários e canis comerciais da cidade de Belém, no Pará; Maia et al. (1999) encontraram uma prevalência de 25,7% em cães da cidade do Rio de Janeiro e Niterói. Melo et al. (1997/98), em estudo conduzido no Distrito de Monte Gordo-Camaçari/Bahia, verificaram, soropositividade em 37% da população canina estudada.

Sabendo-se que a técnica utilizada pode resultar em alguns falsos positivos e negativos, tal interferência deve ser considerada nos resultados, tornando necessários estudos, mais detalhados, visando o desenvolvimento e padronização de procedimentos técnicos mais específicos, sensíveis e que

preferencialmente sejam rápidos, práticos e economicamente viáveis.

A população canina investigada no estudo em questão foi composta por animais de ambos os sexos, idades variadas e raças diversas, não sendo adotada classificação em animais de pequeno e grande porte.

Dos cinco animais soropositivos, 40% (2/5) eram machos e 60% (3/5) eram fêmeas (Tab 1). Portanto, analisando-se o sexo como possível fator de risco

associado à soropositividade para *Brucella canis*, não foi observada significância estatística ( $P = 0,339$ ), ou seja, não foi possível demonstrar predisposição de sexo, estando os machos e fêmeas semelhantemente expostos ao risco de infecção na população estudada. Resultados semelhantes são relatados por Moraes et al. (2002) e Azevedo et al. (2003) que utilizaram 119 e 410 cães, respectivamente.

Tabela 1 - Frequência de cães reagentes e não reagentes por imunodifusão em gel de agarose para *Brucella canis*, segundo o sexo, na região metropolitana de Salvador - Salvador - 2006

Sexo	IDGA <sup>1</sup>		Total(%)
	Animais reagentes (%)	Animais não reagentes (%)	
Fêmeas	3 (8,82)	31 (91,18)	34 (40)
Machos	2 (4,17)	46 (95,83)	48 (56,47)
Sem informação	0 (0)	3 (100)	3 (3,53)
Total	5 (5,88)	80 (94,12)	85 (100)

1-IDGA- Imunodifusão em gel de agar para *Brucella canis*  
 $P = 0,339$

Apesar de não haver correlação estatisticamente significativa entre a faixa etária e a frequência de animais soropositivos para *Brucella canis* ( $P=0,228$ ), observou-se ocorrência de reação positiva apenas em animais acima de dois anos (Tab. 2). Resultados similares aos obtidos por Moraes et al. (2002) que relatam maior proporção de

soropositividade em animais com idade superior a um ano, o que pode ser justificado pela maturidade sexual e conseqüente cobertura, bem como pela maior probabilidade de contato com animais infectados (JOHNSON e WALKER, 1992; CARMICHEL e GREENE, 1998).

Tabela 2 - Frequência de cães reagentes e não reagentes por imunodifusão em gel de agarose para *Brucella canis*, segundo a idade, na região metropolitana de Salvador - Salvador - 2006

Idade (meses)	IDGA <sup>1</sup>		Total(%)
	Animais reagentes( %)	Animais não reagentes (%)	
< 24	0 (0)	18 (100)	18 (21,18)
≥ 24	5 (7,58)	61 (92,42)	66 (77,65)
Sem informação	0 (0)	1 (100)	1 (1,17)
Total	5 (5,88)	80 (94,12)	85 (100)

1-IDGA-Imunodifusão em gel de agar para *Brucella canis*  
 $P = 0,228$

Dentre as primeiras descrições de cães infectados por *Brucella canis*, os da raça beagle foram considerados os mais

susceptíveis (MOORE, 1969). No entanto, a doença, posteriormente, passou a ser diagnosticada em cães de raças diversas

(CARMICHAEL e KENNEY, 1968). No presente estudo, a presença de soropositividade para *Brucella canis* foi observada em cães SRD (Sem Raça

Definida), maioria da população canina investigada, seguida das raças Rotweiller, Fila Brasileiro e Poodle (Tab. 3).

Tabela 3 - Frequência de cães reagentes e não reagentes por imunodifusão em gel de agarose para *Brucella canis*, segundo a raça, na região metropolitana de Salvador - Salvador – 2006.

Raça	IDGA <sup>1</sup>		Total(%)
	Animais reagentes( % )	Animais não reagentes (%)	
SRD	2 (10)	18 (90)	20 (23,53)
Rotweiller	1 (12,50)	7 (87,50)	8 (9,41)
Pastor Alemão	0 (0)	13 (100)	13 (15,29)
Fila Brasileiro	1 (14,29)	6 (85,71)	7 (8,24)
Boxer	0 (0)	5 (100)	5 (5,88)
Poodle	1(33,33)	2 (66,67)	3 (3,53)
Labrador	0 (0)	6 (100)	6(7,06)
Pit Bull	0 (0)	4 (100)	4 (4,71)
Outras raças	0 (0)	19 (100)	19 (22,35)
Total	5 (5,88)	80 (94,12)	85 (100)

1-IDGA-Imunodifusão em gel de agar para *Brucella canis*

Apesar do número total de animais avaliados não ser expressivo para representar a população canina da região metropolitana de Salvador, a porcentagem de 5,88% deve ser considerada importante, pois significa que uma parcela da

população canina, apesar de pequena, pode estar desempenhando o papel de reservatório para *Brucella canis*, expondo ao risco de infecção, não só outros cães, como também os seres humanos.

## CONCLUSÃO

A frequência de anticorpos anti-*Brucella canis* em cães da região metropolitana de Salvador foi de 5,88% (5/85).

Não houve associação entre o sexo e idade e a soropositividade para *Brucella canis*.

A soropositividade foi observada apenas em animais acima de dois anos.

É importante salientar que a pesquisa de anticorpos anti-*Brucella canis* no estudo descrito não foi planejada para a obtenção de prevalência. Ressalta-se, portanto, a necessidade de estudos posteriores utilizando uma amostragem representativa da população canina da região metropolitana de Salvador.

## REFERÊNCIAS

ACHA, P. N. ; SZYFRES, B.Brucelosis. In: **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. In: \_\_\_\_\_. 2. ed. Washington: Oficina Panamericana de la Salud, 1986. p.14-36.

ALVES, C. J. ; ALVES, F. A. L. ; GOMES, A. A. B. ; AZEVEDO, S. S.; ANDRADE, J. S. L. ; SANTOS, F. A. Aspectos epidemiológicos de

*Brucella canis* em Patos, Paraíba, Brasil. **Ciência Animal**, v.13, n. 1, p.45-49, 2003.

ALMEIDA, A. C.; MENESES, A. M.; BERNIS, V. M. O. ; SOARES, T. M. P. ; LOIOLA, C. F. ; MARINOVICK, C. ; PEREIRA, P. A. S. Soroprevalência de brucelose canina na cidade de Alfenas, MG: dados preliminares. **Arquivo Brasileiro de**

**Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 3, p. 358-360, 2001.

AZEVEDO, S. S. ; VASCONCELLOS, S. A. ; ALVES, C. J. ; KEID, L. B. ; GRASSO, L. M. P. S. ; MASCOLLI, R. ; PINHEIRO, S. R. Inquérito sorológico e fatores de risco para brucelose por *Brucella canis* em cães do município de Santana de Parnaíba, estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, n.4, p. 156-160, 2003.

CARMICHAEL, L. E. *Brucella canis*. In: NIELSEN, K. ; DUNCAN, J. R. (ed). **Animal brucellosis**. Boca Raton: CRC Press, 1990. p. 335-350.

CARMICHAEL, L. E. Canine brucellosis: an annotated review with selected cautionary comments. **Theriogenology**, v. 6, n.2-3, p.105-116, 1976.

CARMICHAEL, L. E.; GREENE, C. E. Canine brucellosis. In: GREENE, C. E. (ed.). **Infectious diseases of the dog and cat**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p. 248-257.

CARMICHAEL, L.E.; GREENE, C.E. Canine brucellosis. In: GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1990. p. 573-584.

CARMICHAEL, L. E.; JOUBERT, J. C. Transmission of *Brucella canis* by contact exposure. **Cornell Veterinarian**, v. 78, n.1, p. 63-73, 1988.

CARMICHAEL, L. E. ; KENNEY, R. M. Canine abortion caused by *Brucella canis*. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 152, n. 6, p. 605-616, 1968.

CARMICHAEL, L. E., SHIN, S. J. Canine brucellosis: a diagnostician's dilemma. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery ( Small Animal )**, v. 11, n. 3, p. 161-165, 1996.

CARVALHO, M. R.; MOLNÁR, L. ; MOLNÁR, E. ; DIAS, H.L.; LIMA, E. S. C. Ocorrência da *Brucella canis* e *Brucella* ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**.4. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1998. 663p.

*abortus* em cães criados no estado do Pará. **Revista Ciência Agrária**, n.34, p.69-76, 2000.

GODOY, A. M. ; PERES, J. N. ; BARG, L. Isolamento de *Brucella canis* em Minas Gerais, Brasil. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, v. 29, p.35-42, 1977.

JOHNSON, C. A., WALKER, R. D. Clinical signs and diagnosis of *Brucella canis* infectio. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. Small Animal**, v. 14, n. 6, p. 763-772, 1992.

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.

MARASSI, C. D. ; MORAES, I. A. ; LILENBAUM, W. Soroprevalência de brucelose canina no município do Rio de Janeiro pelo método de imunodifusão em gel de Agarose. **Revista Brasileira da Ciência Veterinária**, v. 10, n. 1, p. 63-64, 2003.

MELO, S M B. ; AGUIAR, P. H. P. ; NASCIMENTO, R. M. ; FREIRE, S. M. Avaliação sorológica por imunodifusão em gel de agarose para diagnóstico de *Brucella canis* em cães no Distrito de Monte Gordo-CamaçariBahia. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia**, v. 19, n.1, p. 119-127, 1997/98.

MORAES, C. C. G. ; MEGID, J. ; SOUZA, L. C. ; CROCCI, A. J. Prevalência da brucelose canina na microrregião da serra de Botucatu, São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 2, p. 7-10, 2002.

SOUZA, L. A. ; VIANA, R. C. A. ; MICHALICK, M. S. M. ; REIS, J. K. P. ; LAGE, A. P. Prevalência da infecção por *Brucella canis* em Belo Horizonte-MG. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 24, n.3, p. 127-131, 2002.