Soroprevalência e fatores de risco associados à infecção por *Brucella canis* em cães da cidade de Campina Grande, estado da Paraíba

Soroprevalence and risk factors associated to "Brucella canis" infection in dogs from Campina Grande, Paraíba

VASCONCELOS, Rodrigo Tavares Jordão de¹; ALVES, Clebert José²; CLEMENTINO Inácio José³; ARAÚJO NETO, José Othon³; ALVES, Francisco de Assis Leandro³; BATISTA, Carolina de Sousa Américo⁴; BERNARDI, Fernanda⁵; SOTO, Francisco Rafael Martins⁵; OLIVEIRA, Robério Macedo de⁶; AZEVEDO, Sérgio Santos de^{2*}

RESUMO

Foi investigada a soroprevalência de brucelose canina por Brucella canis em cães da cidade de Campina Grande, estado da Paraíba, Brasil, e realizado um estudo de possíveis fatores de riscos associados à soropositividade. Foram examinadas 170 amostras de soro sangüíneo de cães colhidas durante a campanha de vacinação anti-rábica animal, realizada em setembro de 2003. Para o diagnóstico sorológico da infecção por Brucella canis, foi empregada a prova de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), utilizando antígeno de lipopolissacarídeos e proteínas de 198. Brucella ovis, amostra Reo soroprevalência encontrada foi de 2,35% (IC 95% = 0.64% - 5.91%). O perfil epidemiológico da doença mostrou que o agente infecta em iguais condições os animais sem diferença de sexo, tipo de manejo e idade, havendo, contudo, associação estatística entre soropositividade para Brucella canis e ocorrência de abortamentos.

Palavras-chave: *Brucelose canina*, soroepidemiologia, prevalência

SUMMARY

The prevalence of brucellosis due to Brucella canis was investigated in dogs from Campina Grande, Paraíba, Northern region of Brazil, and the risk factors for seropositivity were also analyzed. For this purposes, 170 dogs' blood samples were collected during the rabies vaccination campaign, in September, 2003. The agar gel immunodiffusion test (AGID), by Brucella ovis lipopolysaccharides and proteins antigens, sample Reo 198, was used for serological diagnosis. The seroprevalence was 2.35% (95% CI = 0.64% - 5.91%). The epidemiological evidences showed that canine brucellosis due to Brucella canis in this area presented no association with the variables sex, age and management, however, there was statistic association between Brucella canis seropositivity and abortions occurrence.

Keywords: *canine Brucelosis*, prevalence, seroepidemiology

¹Especialista em Saúde Pública Veterinária, UFCG, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Patos, Paraíba, Brasil.

²Doutor em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses, UFCG, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Patos, Paraíba, Brasil.

³Mestre em Medicina Veterinária de Pequenos Ruminantes, UFCG, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Patos, Paraíba, Brasil.

⁴Mestre em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses, USP/FMVZ, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, Brasil.

⁵Doutor em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses, Prefeitura Municipal de Ibiúna, Centro de Vigilância Sanitária e Controle de Zoonoses "Tereza Rodrigues de Camargo", Ibiúna, São Paulo, Brasil.

⁶Graduando em Medicina Veterinária, UFCG, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Patos, Paraíba, Brasil.

^{*}Endereço para correspondência: sergio@vps.fmvz.usp.br

INTRODUÇÃO

complicações

GREENE, 1998).

e

hepatite

A brucelose canina por *Brucella canis* é uma doença infectocontagiosa, de caráter zoonótico, caracterizada, principalmente, por abortamentos e esterilidade nas fêmeas e orquite e epididimite nos machos (CARMICHAEL & GREENE, 1998). Foi descrita, inicialmente, nos Estados Unidos da América, durante casos de abortamentos em canis de New Jersey (CARMICHAEL, 1966).

doença tem grande relevância econômica, especialmente, para criadores, pois a infecção acomete um grande número de animais (GOMES et al., 1999), porém pouco se tem feito no sentido de verificar sua ocorrência e distribuição. O caráter zoonótico da brucelose canina por B. canis deve ser considerado em face da complexa relação da população canina com seres humanos (CÔRTES et al., 1988) e, principalmente, pelo estreito contato estabelecido entre cães e crianças. Os clínicos principais sinais nos humanos são febre, calafrios, fadiga muscular, sudorese profusa, mal-estar, linfadenomegalia e perda de peso. As

incluem

abscessos

miocardite, pericardite, meningite, otite,

(HARTIGAN, 1997; CARMICHAEL &

endocardite,

viscerais

No Brasil, a presença de cães infectados por *Brucella canis* foi confirmada, tanto por investigações que isolaram o agente (FERNANDES et al., 1976/77; GODOY et al.; 1977; LARSSON, 1979; LARSSON & COSTA, 1980; VARGAS et al., 1996; GOMES et al., 1999), como por inquéritos sorológicos que identificaram a presença de anticorpos séricos contra *Brucella canis* (SANDOVAL et al., 1976; WALD & FERNANDES, 1976/1977; GODOY et al., 1977; GERMANO et al., 1987; CÔRTES et al., 1988; ALVES et al., 1999; MEGID et al., 1999; ALMEIDA et al., 2001; AZEVEDO et al., 2003).

Considerando-se a importância da *Brucella canis* como agente zoonótico e a escassez de informações acerca da soroprevalência em cães no estado da Paraíba, os objetivos do presente trabalho foram determinar a soroprevalência da brucelose por *Brucella canis* e identificar possíveis fatores de risco associados à infecção em cães da cidade de Campina Grande, PB.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido durante a campanha de vacinação anti-rábica animal do município de Campina Grande, PB, realizada em setembro de 2003, onde foi viabilizada a utilização dos postos fixos de vacinação como locais de colheita de sangue dos cães, para a obtenção de uma amostra que representasse a realidade dos vários bairros. Para tanto, a colheita acompanhou o cronograma utilizado na campanha de vacinação, que passa por todos os bairros da cidade.

A amostra colhida foi calculada com base na população total de cães da cidade, estimada a partir da população humana de 335.000 habitantes (BRASIL, 2003). Para o cálculo da proporção cão/homem, foi utilizada a relação de 1:10 (REICHMANN et al., 1999), que redundou em um total de 33.500 animais. O cálculo da amostra foi feito com o programa Epilnfo 6.04, considerando-se um nível de confianca de 50% 95%. prevalência esperada de (correspondente doenças a desconhecida ocorrência em determinada população) e erro estatístico de 7,5%, resultando no N amostral de 170. A escolha da prevalência esperada de 50% também teve como objetivo a maximização da amostra.

Foram amostrados 35 postos de um total de 60 postos de vacinação na cidade de Campina Grande. Em cada posto de vacinação, o número de amostras de sangue colhidas foi previamente determinado por sorteio probabilístico

aleatório de acordo com ordem a cronológica, até perfazer o total de 170 amostras. Assim, postos com maior número de animais tiveram maior número de amostras colhidas. A colheita foi realizada após a aplicação da vacina antirábica nos cães sorteados. Os proprietários dos cães responderam a um questionário informações sobre algumas características individuais dos animais (sexo, idade, tipo de manejo e ocorrência de abortamentos). Esses dados serviram de parâmetros para a análise de associação com a soropositividade para a doença. As informações obtidas com os questionários inseridas em um formulário foram eletrônico elaborado no programa de computador Microsoft Access®.

A colheita de sangue foi efetuada por punção da veia cefálica, e as amostras foram colocadas em tubos de vidro, identificadas e mantidas sob refrigeração até a chegada ao laboratório, onde foram centrifugadas e estocadas a -20°C até a realização das provas sorológicas para o diagnóstico de infecção por *B. canis*.

Para o diagnóstico sorológico da brucelose canina por Brucella canis, foram utilizados produzidos kits pelo Instituto Tecnologia do Paraná (TECPAR). A técnica foi executada de acordo com as recomendações do fabricante, utilizando-se antígeno de lipopolissacarídeos e proteínas de Brucella ovis, amostra Reo 198. As leituras foram realizadas com 24, 48 e 72 horas, mediante sistema de iluminação com luz indireta e fundo escuro. O resultado considerado foi o da leitura de 72 horas. O soro cuja linha de precipitação apresentou identidade com a linha formada pelo soro padrão foi considerado positivo. O soro foi considerado negativo quando houve formação de linha de precipitação ou a linha formada não apresentou identidade com a do soro padrão.

A análise de associação entre as características individuais dos animais e a prevalência de anticorpos anti-*B. canis* foi realizada pelo teste de qui-quadrado ou

teste exato de Fisher, quando indicado, com um nível de significância de 5% (ZAR, 1999). Para a identificação de possíveis fatores de risco associados à soropositividade para *B. canis*, foi realizada uma análise univariada pela estimativa pontual e intervalar da *odds ratio* (OR).

RESULTADOS

Dos 170 soros de cães examinados pela prova de IDGA aplicada ao diagnóstico sorológico da brucelose canina por *B. canis*, quatro foram positivos, resultando em uma prevalência de 2,35% (IC 95% = 0,64% - 5,91%).

Na Tabela 1 são apresentados os resultados da análise de associação entre as variáveis sexo, tipo de manejo, idade e abortamentos e a soropositividade para B. canis. A única variável associada à soropositividade foi a ocorrência de abortamentos (p = 0.03).

DISCUSSÃO

A prevalência de anticorpos contra *B. canis* em cães da cidade de Campina Grande, PB (2,35%; IC 95% = 0,64% - 5,91%) foi estatisticamente igual à encontrada por Azevedo et al. (2003), em Santana de Parnaíba, SP (2.2%: IC 95% = 1.01% -4.13%). No entanto. valores muito superiores foram observados por Vargas et al. (1996), em Uruguaiana, RS, Megid et al. (1999), em Botucatu, SP, e Nárez et al. (1999), na cidade do México, que obtiveram, respectivamente, 72,7%, 57,1% e 45% de positividade. Essa diferença pode ser explicada pelo fato de esses estudos terem sido conduzidos em canis comerciais apresentavam histórico infertilidade, abortamentos e nascimento de natimortos, o que cria um ambiente propício para a rápida difusão da infecção (CARMICHAEL & GREENE, 1998). No

presente estudo, foi examinada uma amostra aleatória de animais pertencentes a diferentes proprietários e distribuídos em diversas áreas da cidade. Destaca-se, ainda, que a maioria dos animais não apresentava histórico de problemas reprodutivos sugestivos de brucelose por *B. canis*.

Tabela 1. Distribuição de cães positivos e negativos segundo as variáveis estudadas e respectivos valores de odds ratio (OR), intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e a probabilidade de ocorrência ao acaso (p)

Variáveis	Soropositividade		— OR [IC 95%]	
	Nº de cães	%	— OK [IC 93%]	p
Sexo				
Macho	1/92	1,1	1	
Fêmea	3/78	3,8	3,64 [0,28 - 193,15]	0,25
Manejo				
Domiciliar	1/81	1,2	1	
Semi-domiciliar	1/52	1,9	1,57 [0,02 - 124,65]	0,63
Solto	2/37	5,4	4,57 [0,23 - 272,98]	0,23
Idade				
> 1 ano	2/73	2,7	1	
Até 1 ano	2/62	3,2	1,18 [0,08 - 16,76]	0,62
Abortamento				
Não	2/77	2,6	•••	
Sim	1/1	100,0	•••	0,03

Germano et al. (1987) realizaram um estudo de prevalência da infecção por *B. canis* por meio de 352 amostras de soro de cães colhidos durante a campanha de vacinação anti-rábica de Campinas, SP, realizada em agosto de 1981, e encontraram 5,4% de positividade, valor superior ao obtido no presente trabalho.

Isso pode ser explicado pela diferença das metodologias utilizadas na amostragem, uma vez que naquele estudo houve a cobertura de apenas 10% dos postos de vacinação, diferentemente do presente trabalho, que abrangeu todos os postos de vacinação utilizados. Vale ainda ressaltar que os dois inquéritos empregaram testes sorológicos distintos, o que também pode ter contribuído para a desigualdade dos resultados obtidos (CARMICHAEL & GREENE, 1998).

Côrtes et al. (1988) examinaram 3.386 cães errantes capturados pelo programa de controle de reservatórios de zoonoses do

Centro de Controle de Zoonoses Secretária de Higiene e Saúde Município de São Paulo, durante o período de 1981 a 1985, e encontraram 7,5% de positividade, o que foi superior percentual encontrado no presente trabalho. Naquele estudo, foi empregado como teste diagnóstico a imunodifusão em gel de ágar com antígeno produzido pelo Centro Panamericano de Zoonoses (CPZ). A população canina era constituída apenas por cães errantes e não foram estabelecidos critérios quanto ao tamanho amostral, de modo que os animais examinados não estavam distribuídos por toda a extensão geográfica do município, o que poderia justificar as diferenças observadas em relação aos resultados do presente estudo. Analisando-se o sexo como possível fator de risco associado à soropositivdade para B. canis, não foi observada significância estatística. Oll seja, não predisposição de sexo, e os machos e as

fêmeas estavam igualmente expostos ao risco da infecção. Resultados semelhantes foram encontrados por Hubbert et al. (1980), Germano et al. (1987) e Moraes et al. (2002).

Também não houve associação estatística entre o tipo de manejo e a soropositividade para B. canis. Esse achado pode ser considerado inusitado, pois o manejo do tipo solto é um evento epidemiológico relevante para a brucelose canina já ressaltada por Moore (1969), Brown et al. (1976) e Lovejoy et al. (1976), uma vez que animais submetidos a esse regime de manejo podem entrar em contato com outros animais, o que aumenta as chances da infecção (CARMICHAEL & GREENE, 1998). A ausência de associação observada pode ser explicada pelo pequeno número de reações positivas entre os animais criados soltos (2/35), pois certos estudos podem perder poder estatístico quando uma determinada variável ocorre com baixa frequência (SASAKI et al., 1993) e, nesses casos, a variável poderá ser considerada como não adequadamente avaliada. Outro ponto a ser levado em consideração é que, ao se trabalhar com questionário epidemiológico, os resultados dependem da veracidade do proprietário na resposta, o que pode gerar um viés incontornável, prejudicial à análise de fatores de risco.

Ouando a faixa etária foi analisada com o possível fator de risco, associado à soropositividade para B. canis. não foi observada significância estatística, ou seja, animais impúberes e sexualmente maduros estão igualmente expostos ao risco da Animais impúberes infecção. podem adquirir a infecção e se tornar bacterêmicos e, nesse caso, normalmente a manifestação clínica apenas linfondenopatia uni ou bilateral. No entanto, os sinais clínicos reprodutivos só manifestam após a puberdade (CARMICHAEL & KENNEY, 1970; JOHNSON & WALKER, 1992).

Com relação à ocorrência de abortamentos, 100% (1/1) das fêmeas com histórico de

abortamento foram soropositivas, comparados a 2,6% (2/77) de fêmeas soropositivas, entre as que não abortaram. Hubbert et al. (1980), em Baton Rouge, estado da Louisiana, EUA, utilizando a soroaglutinação lenta em tubos em soros tratados pelo 2-mercaptoetanol, encontram 47,6% de positivos em 21 cadelas que haviam abortado. Megid et al. (1999), em Botucatu, estado de São Paulo, ao examinarem 151 cães da raça Poodle, provenientes de quatro canis diferentes, encontraram 50% de soropositivos entre as fêmeas com histórico de abortamento. No presente trabalho. houve associação estatística (P = 0,03) entre a ocorrência de abortamentos e a soropositividade para B. canis, fato esperado, pois o abortamento é o principal sinal clínico da brucelose por *B*. canis em cadelas gestantes (MOORE, 1969: JOHNSON & WALKER, 1992: CARMICHAEL & GREENE. 1998: WANKE, 2004).

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, conclui-se que a brucelose canina por *Brucella canis* ocorre em um nível relativamente baixo em Campina Grande, Paraíba. O perfil epidemiológico da doença mostrou que o agente infecta em iguais condições os animais sem diferença de sexo, tipo de manejo e idade, havendo, contudo, associação estatística entre soropositividade para *Brucella canis* e ocorrência de abortamentos.

REFERÊNCIAS

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. ALVES, F.A.L.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S.; ANDRADE, J.S.L.; SANTOS, F.A.S. Prevalência de anticorpos anti-*Brucella canis* em cães na cidade de Patos-PB. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 4., 1999, Recife. **Anais**... Recife: SPEMVE, 1999. p. 259-260.

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

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA**. Disponível em: http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/>. Acesso em: 12 jan. 2003.

BROWN, J.; BLUE, J.L.; WOOLEY, R.E.; DREESEN, D.W.; CARMICHAEL, L.E. A serologic survey of a population of Georgia dogs for *Brucella canis* and an evaluation of the slide agglutination test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.169, n.11, p.1214-1216, 1976.

CARMICHAEL, L.E. Abortions in 200 Beagles. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.149, n.8, p.1126, 1966.

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

CARMICHAEL, L.E.; KENNEY, R.M. Canine brucellosis: the clinical disease, pathogenesis, and immune response.

Journal of the American Veterinary

Medical Association, v.156, n.12, p.1726-1734, 1970.

CÔRTES, J.A.; OLIVEIRA, M.C.G.; ITO, F.H.; V ASCONCELLOS, 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.; W ALD, V.B.; JOBIM, G.B. Isolamento de *Brucella canis* do humor aquoso de um cão com lesões oculares. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.4, n.5, p.109-113, 1976/77.

GERMANO, P.M.L.; V ASCONCELLOS, 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.; BARO, L. Isolamento de *Brucella canis* em Minas Gerais, Brasil. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFM G**, v.29, n.1, p.35-42, 1977.

GOMES, M.J.P.; DRIEMEIER, D.; SOARES, H.C.; BASTOS, C.D.; CANTO, S.P.; BRUM, M.; ROSSI, A.C.; CORBELLINI, L.O. *Brucella canis*: isolamento em um cão com epididimite e orquite - relato de caso. **Clínica Veterinária**, v.4, n.18, p.17 -20, 1999.

HARTIGAN, P.J. Human brucellosis: epidemiology and clinical manifestations. **Irish Veterinary Journal**, v.50, n.3, p.179-180, 1997.

HUBBERT, N.L.; BECH-NIELSEN, S.; BARTA, O. Canine brucellosis: comparison of clinical manifestations with

serologic test results. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.177, n.2, p.168-171, 1980.

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

LARSSON, M.H.M.A. **Estudo epidemiológico da brucelose canina**. 1979. 50f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, USP, São Paulo.

LARSSON, M.H.M.A.; COSTA, E.O. Isolation of *Brucella canis*. International Journal of **Zoonoses**, v.7, n.2, p.125-130, 1980.

LOVEJOY, O.S.; CARVER, H.D.; MOSELEY, I.K.; HICKS, M. Serosurvey of dogs for *Brucella canis* infection in Memphis, Tennessee. **American Journal of Public Health**, v.66, n.2, p.175-176, 1976.

MEGID, J.; BRITO, A.F.; MORAES, C.C.O.; FAVA, N.; AOOTTANI, J. Epidemiological assessment of canine brucellosis. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.51, n.5, p.439-440, 1999.

MOORE, J.A. *Brucella canis* infection in dogs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.155, n.12, p.2034-2037, 1969.

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. **Arquivo do Instituto de Biologia**, v.69, n.2, p.7-10, 2002.

NÁREZ, O.M.; CORTÉS, E.M.; REYNOSO, B.A.; BASILIO, J.I.M.; APARICIO, E.D. Seguimiento de un brote de *Brucella canis* en un criadero de perros en la ciudad de Mexico. **Técnica Pecuaria** en México, v.37, n.3, p.43-50, 1999.

REICHMANN, M.L.A.B.; PINTO, H.B.F.; NUNES, V.F.P. **Vacinação contra a raiva de cães e gatos**. São Paulo: Instituto Pasteur, 1999. 32p. (Manuais, 3).

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. **Biológico**, v.2, n.5-6, p.128132, 1976.

SASAKI, D.M.; PANG, L.; MINETTE, H.P.; W AKIDA, C.K.; FUJIMOTO, W.J.; MANEA, S.L; KUNIOKA, R.; MIDDLETON, C.R. Active surveillance and risk factors for leptospirosis in Hawaii. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.48, n.1, p.35-43, 1993.

VARGAS, A.C.; LAZZARI, A.; DUTRA, V.; POESTER, F. Brucelose canina: relato de caso. **Ciência Rural**, v.26, n.2, p.305-308, 1996.

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

WALD, V.B.; FERNANDES, J.C.T. Sorologia da brucelose canina no município de Porto Alegre, RS. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.4, n.5, p.92-95, 1976/77.

WANKE, M.M. Canine brucellosis. **Animal Reproduction Science**, v.82, p.195-207, 2004.

Data de recebimento: 16/01/2008 Data de aprovação: 08/08/2008