

Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella abortus* e anti-*Brucella canis* em cães rurais e urbanos do Município de Monte Negro, Rondônia, Brasil

Anti-Brucella abortus and anti-*Brucella canis* antibodies occurrence in rural and urban dogs from Monte Negro county, Rondônia, Brazil

Daniel Moura de Aguiar¹ Guacyara Tenório Cavalcante¹ Silvio Arruda Vasconcelos¹
Jane Megid² Vanessa Riesz Salgado² Tais Fukuta Cruz² Marcelo Bahia Labruna¹
Adriano Pinter¹ Jean Carlos Ramos da Silva³ Zenaide Maria Moraes⁴
Luís Marcelo Aranha Camargo⁵ Solange Maria Gennari¹

- NOTA -

RESUMO

Foram avaliados 304 cães de ambiente rural e urbano do município de Monte Negro, Rondônia, através do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), Soroaglutinação Lenta em Tubos (SAL) e 2-Mercaptoetanol (2-ME) para a pesquisa de anticorpos anti-*Brucella abortus* e da Imunodifusão em gel de ágar (IDGA) e Imunodifusão em gel de ágar com soro tratado com 2-Mercaptoetanol (IDGA-ME) para *Brucella canis*. Foram consideradas positivas as amostras reagentes nas provas confirmatórias do 2-ME e IDGA-ME. Verificaram-se 56 (18,4%) animais reagentes ao AAT e 12 (4,0%) reagentes a SAL. Apenas um cão (0,3%) foi considerado positivo, confirmado pela prova do 2-ME. Foram observadas 11 (3,6%) reações à IDGA, porém não houve confirmação na prova do IDGA-ME. Ressalta-se a baixa ocorrência de cães positivos ao 2-ME e a ausência de animais reagentes à IDGA-ME

Palavras-chave: *Brucella abortus*, *Brucella canis*, cães, Amazônia, sorologia.

ABSTRACT

Serum samples from 304 dogs living in urban or rural areas of Monte Negro County, Rondônia State, Brazil, were evaluated for *Brucella abortus* reactivity using the Rose-Bengal Test (RBT), Standard Tube agglutination Test (SAT), and Mercaptoethanol Test (MET), and for *Brucella canis* reactivity using the Immunodiffusion test (AGID) and Immunodiffusion test with 2-Mercaptoethanol (ME-AGID). Serum was considered

positive if reacted in the MET or ME-AGID. Fifty-six (18.4%) dogs reacted by the RBT, and 12 (4.0%) by the SAT. One (0.3%) dog was positive by the MET. Eleven (3.6%) dogs reacted by the AGID, but with no confirmation by the ME-AGID. It the small occurrence of dogs reacting by the MET and the absence of reactivity by ME-AGID is emphasized.

Key words: *Brucella abortus*, *Brucella canis*, dogs, Amazon, serology

A brucelose é uma doença infecciosa crônica que acomete o homem e os animais, causada por bactérias do gênero *Brucella* (ACHA et al., 1986). A infecção canina por *B. canis* tem sido mundialmente estudada desde seu primeiro relato nos Estados Unidos, quando CARMICHAEL et al. (1966) a identificaram como causadora de abortamento em cães.

No Brasil, estudos conduzidos com identificação, isolamento do agente (GODOY et al., 1977; LARSSON & COSTA, 1980; KEID, 2001) e inquéritos sorológicos (MAIA et al., 1999; MORAES, 2000; AZEVEDO et al., 2003) enfatizaram a importância clínica e epidemiológica do agente na população canina. O caráter zoonótico da *B. canis*

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP). Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87. Cidade Universitária, 05508-900, São Paulo, SP, Brasil. Email: danmoura@usp.br. Autor para correspondência.

²FMVZ, Universidade Estadual Paulista (UNESP). Botucatu, SP, Brasil.

³Universidade Anhembi-Morumbi, São Paulo, SP, Brasil.

⁴VPS, FMVZ, USP, São Paulo, SP, Brasil.

⁵Instituto de Ciências Biomédicas V, USP. Monte Negro, Rondônia, Brasil.

também deve ser considerado, face aos relatos clínicos em humanos no Brasil e no mundo (ROXO et al., 1990; CARMICHAEL & GREENE, 1998). Os cães também se apresentam susceptíveis à infecção pela *B. abortus*, principalmente em ambientes rurais, quando em contato com espécies potencialmente acometidas como a bovina (FORBES, 1990).

O presente estudo procurou avaliar a ocorrência de anticorpos anti-*B. abortus* e anti-*B. canis* em cães provenientes da zona urbana e rural do município de Monte Negro, Estado de Rondônia.

O presente município localiza-se na Amazônia Ocidental Brasileira (10° 18' Sul; 63° 14' Oeste) ficando cerca de 250km a sudoeste de Porto Velho, capital do Estado. A região é caracterizada por topografia irregular, solos mistos, vegetação equatorial amazônica de terra firme, clima quente e úmido, com temperatura de 25 a 29°C e umidade relativa entre 70 a 80% durante o ano todo (AGUIAR, 2004).

Foram examinados 304 cães de idade e raças variadas e de ambos os sexos, dos quais 129 cães da área urbana e 175 da área rural, provenientes de fazendas de criação de bovinos. A determinação do número de cães na zona urbana a serem examinados, considerou a frequência esperada de 50 %, precisão mínima de 10% e intervalo de confiança de 95%. Os cães do meio rural foram amostrados durante estudo conduzido na região que avaliou enfermidades reprodutivas em bovinos. Foram colhidas amostras de sangue de 175 cães que estavam presentes em 86 propriedades envolvidas no estudo, representando o total de cães presentes por ocasião das visitas (AGUIAR, 2004). Os cálculos amostrais foram realizados com o programa EPIINFO 6.04.

As amostras de sangue foram obtidas assepticamente por venopunção da cefálica ou jugular, em tubos a vácuo e os soros foram obtidos após a retração do coágulo e estocados a -20°C até o momento das análises. Para a pesquisa de anticorpos anti-*B. abortus*, as amostras foram primeiramente testadas pela prova do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT). As amostras reagentes neste procedimento foram confirmadas pela Soroaglutinação Lenta em Tubos (SAL) e também pela Soroaglutinação Lenta em Tubos com 2-Mercaptoetanol (2-ME) conforme PEREIRA FILHO et al. (1976). Para minimizar reações inespecíficas, foram consideradas positivas apenas as amostras confirmadas pela 2-ME (POESTER, 1975). Quanto à pesquisa de anticorpos anti-*B. canis*, as amostras foram testadas à prova de Imunodifusão em gel de ágar (IDGA) com antígeno de *B. ovis*. Nas amostras reagentes, a mesma técnica foi aplicada em soros tratados previamente com 2-Mercaptoetanol

(IDGA-ME). Foram consideradas positivas as amostras reagentes pela IDGA-ME, conforme descrito por MORAES (2000) e KEID (2001). Os antígenos utilizados foram produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR).

O resultado da sorologia para *B. abortus* e *B. canis* são apresentados na tabela 1. Do total de cães estudados, apenas um (0,3%) cão adulto, do sexo masculino proveniente de ambiente urbano, reagiu no teste de 2-ME. Nenhum cão foi reagente ao teste confirmatório da IDGA-ME.

Neste estudo, foi constatada uma baixa frequência (0,3%) de soropositivos no teste confirmatório do 2-ME, em contraste às frequências observadas na prova do AAT (18,4%) e SAL (4,0%). A utilização de 2-ME se faz indispensável, em virtude de possíveis reações inespecíficas que podem ser detectadas pelos testes do AAT e SAL, decorrentes da atividade sérica da Imunoglobulina M (IgM; POESTER, 1975). Por outro lado, as reações observadas no AAT e SAL podem ser oriundas de infecções recentes, onde a presença de Imunoglobulina G (IgG) pode não ser detectada. Em estudo semelhante, PEREIRA FILHO et al. (1976), em Salvador, BA, também detectaram baixa ocorrência, com 1,4% (20/1393) de soropositividade ao 2-ME.

Outros estudos nacionais também detectaram baixa ocorrência de anticorpos anti-*B. abortus*, porém sem a utilização de 2-ME. MAIA et al. (1999) no estado do Rio de Janeiro e ALMEIDA et al. (2001) em Minas Gerais não encontraram cães reagentes para *B. abortus*. LOPES et al. (1999), estudando diversas amostras de soro provenientes de espécies animais e humana no Pará, detectaram um cão (4,3%) reagente a *B. abortus* através da técnica de ELISA.

Nenhum cão se mostrou soropositivo ao teste confirmatório da IDGA-ME. Mesmo assim, 11 (3,6%) cães apresentaram positividade na IDGA. Os fatores como infecção precoce, cães em fase abacterêmica e principalmente as reações cruzadas com outros microrganismos Gram negativos, podem influenciar os resultados sorológicos para *B. canis* (MORAES, 2000; KEID 2001). No último caso, o tratamento prévio do soro com 2-Mercaptoetanol vem sendo utilizado para minimizar as reações decorrentes da atividade sérica da IgM, principal classe de imunoglobulina responsável por reações falso positivas (KEID, 2001).

Este é o primeiro estudo que avalia a prevalência de anticorpos anti-*B. canis* realizado na região da Amazônia Ocidental Brasileira, ainda assim há poucos estudos no Brasil. MORAES (2000) e

Tabela 1 - Frequência das amostras reagentes às provas do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), Soroaglutinação Lenta em Tubos (SAL) e 2-Mercaptoetanol (2-ME) para a pesquisa de anticorpos anti-*B. abortus* e às provas de Imunodifusão em gel de ágar (IDGA) e Imunodifusão em gel de ágar com e 2-Mercaptoetanol (IDGA-ME) para a pesquisa de anticorpos anti-*B. canis* em 304 cães provenientes do meio rural e urbano do município de Monte Negro, RO, segundo faixa etária, 2004.

Cães (meses)	Número	<i>B. abortus</i>			<i>B. canis</i>	
		AAT	SAL (Título)	2-ME (Título)	IDGA	IDGA-ME
Ambiente rural						
0-12	41	03	01 (50)	0	04	0
> 12-24	38	04	01 (25), 02 (50)	0	01	0
> 24	83	05	02 (25), 01 (50)	0	03	0
Indeterminada	13	02	01 (25)	0	0	0
Total	175	14 (8,0%)	08 (4,5%)	0	08 (4,5%)	0
Ambiente urbano						
0-12	17	03	0	0	0	0
> 12-24	16	08	0	0	0	0
> 24	94	29	2 (25), 2 (100)	1 (25)	03	0
Indeterminada	02	0	0	0	0	0
Total	129	40 (31,0%)	04 (3,1%)	01 (0,7%)	03 (2,3%)	0
Total (rural e urbano)	304	56 (18,4%)	12 (4,0%)	01 (0,3%)	11 (3,6%)	0

AZEVEDO et al. (2003), no estado de São Paulo detectaram respectivamente 0,84% (9/1072) e 2,2% (9/410) de cães positivos. Nestes estudos, os autores adotaram apenas os cães reagentes às provas com mercaptoetanol (MORAES, 2000) e reação de fixação de complemento (AZEVEDO et al., 2003) como confirmatória. No estado do Rio de Janeiro, MAIA et al. (1999) encontraram 25,7% (44/171) e MELO et al. (1998), na Bahia, detectaram 37% (40/108) de positividade nos cães estudados. ALMEIDA et al. (2001), no estado de Minas Gerais, encontrou somente cinco (4,9%) cães soropositivos. Estes três estudos adotaram apenas a IDGA como prova diagnóstica. O baixo resultado encontrado na IDGA, neste estudo (3,6%), pode refletir a ausência da *B. canis* na região, o que é presumível, por se tratar de uma região de fronteira agrícola.

Quanto à pesquisa de anticorpos para *B. canis* ou *B. abortus*, esta última espécie foi a única responsável por reação em soro tratado pelo 2-ME. Sabe-se que a infecção canina por *B. abortus* tem sido relacionada ao consumo de alimentos de origem animal e restos de abortamento bovino (CARMICHAEL & GREENE, 1998). Entretanto, neste estudo, o único animal reagente ao 2-ME, era mantido em ambiente urbano. Muitos cães estavam sujeitos ao contato com animais de propriedades peri-urbanas, sendo que em, recente estudo, AGUIAR, (2004) constatou neste município, prevalência de 62% (54/86) de propriedades positivas para brucelose, as quais poderiam estar servindo como fonte de infecção para os cães.

Ressalta-se neste estudo, a baixa prevalência de anticorpos anti-*B. abortus* e a ausência de reações para *B. canis* no município de Monte Negro, RO na Amazônia Ocidental Brasileira, além da importância da *B. abortus* como agente etiológico da brucelose canina em ambientes de fronteira agrícola.

AGRADECIMENTOS

A Fundação Auxílio a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP; processo: 01/11401-9) pelo suporte financeiro concedido para a realização do trabalho, ao Conselho Nacional Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de mestrado de D.M. Aguiar e de produtividade científica de S.M. Gennari e S.A. Vasconcellos e a Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado de G.T. Cavalcante.

REFERÊNCIAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2.ed. Washington, OPAS, 1986. p.989.

AGUIAR, D.M. **Prevalência de anticorpos anti-Neospora caninum, anti-Brucella abortus e anti-Leptospira spp em bovinos da zona rural do município de Monte Negro, Rondônia: Estudos de possíveis fatores de risco**. 2004. 118f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Departamento de Parasitologia. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

ALMEIDA, A.C. et al. Soroprevalência de brucelose canina na cidade de Alfenas, MG. Dados preliminares. **Arq Bras Med Vet Zootec**, v.53, n.3, p.358-360, 2001.

AZEVEDO, S.S. et al. Inquérito sorológico e fatores de risco para a brucelose por *Brucella canis* em cães do município de

- Santana do Parnaíba, Estado de São Paulo. **Pesq Vet Bras**, v.23, n.4, p.156-160, 2003.
- CARMICHAEL, L.E.; GREENE, C.E. Canine brucellosis. In: GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 2.ed. Philadelphia : Saunders 1998. p.248-257.
- CARMICHAEL, L.E. et al. Abortions in 200 Beagles. **J Am Vet Med Assoc**, v.186, n.6, p.1126, 1966.
- FORBES, L.B. *B. abortus* infection in 14 farm dogs. **J Am Vet Med Assoc**, v.196, n.6, p.911-916, 1990.
- GODOY, A.M. et al. Isolamento de *Brucella canis* em Minas Gerais, Brasil. **Arqs Esc Vet Univ Fed Minas Gerais**, v.29, n.1, p.35-42, 1977.
- KEID, L.B. **Diagnóstico da brucelose canina por *Brucella canis*. Correlação entre exames clínicos e laboratoriais: imunodifusão em gel de ágar, imunodifusão em gel de ágar com emprego do 2-mercaptoetanol, cultivo e reação em cadeia pela polimerase**. 2001. 96f. Dissertação (Mestrado em Reprodução animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.
- LARSSON, M.H.M.A.; COSTA, E.O. Isolation of *Brucella canis*. **Int J Zoonoses**, v.7, n.2, p.125-130, 1980.
- LOPES, C.F.A. et al. Avaliação seroepidemiológica da brucelose em animais e humanos procedentes da zona bragantina no estado do Pará - Brasil. **Rev Bras Reprod Anim**, v.23, n.3, p.429-431, 1999.
- MAIA, G.R. et al. Prevalência da brucelose canina nas cidades do Rio de Janeiro e Niterói-RJ. **Rev Bras Reprod Anim**, v.23, n.3, p.425-427, 1999.
- MELO, S.M.B. et al. Avaliação sorológica por imunodifusão em gel de agarose para diagnóstico de *Brucella canis* em cães no distrito de Monte Gordo - Camaçari - Bahia. **Arq Esc Med Vet UFBA**, v.19, n.1, p.119-127, 1998.
- MORAES, C.C.G. **Prevalência de anticorpos anti-*Brucella canis* em cães da microrregião da serra de Botucatu, estado de São Paulo**. 2000. 89f. Dissertação (Mestrado em vigilância sanitária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- PEREIRA FILHO, M. et al. Estudo da incidência da brucelose canina da zona metropolitana de Salvador. **Bolm Inst Biol Bahia**, v.15, n.1, p.63-66, 1976.
- POESTER, F.P. Utilização de provas complementares como elemento auxiliar no diagnóstico da brucelose. **Bolm Inst Pesq Desid Finamor** v.1, n.3, p.61-71, 1975.
- ROXO, E. et al. Brucelose canina: relato de uma possível transmissão de *Brucella canis* ao homem a partir de uma cadela da raça Doberman. **Bolm Inform Cont Zoon Urbanas**, v.13, n.1, p.47-49, 1990.