

## COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

# Soroprevalência de brucelose canina no município do Rio de Janeiro pelo método de Imunodifusão em Gel Agarose

## Serodiganosis of canine brucellosis in Rio de Janeiro by Gel-Agarose immunodiffusion method

Carla Dray Marassi,\* Ismar Araújo de Moraes,\*\* Walter Lilenbaum\*\*\*

### Resumo

Foi feita a pesquisa de anticorpos contra *Brucella canis* no soro sanguíneo de 497 cães, machos e fêmeas, em idade reprodutiva (um a nove anos) e domiciliados no município do Rio de Janeiro, RJ. A técnica usada foi a de imunodifusão em gel agarose, com antígeno de membrana de *Brucella ovis*, desenvolvido pelo laboratório TECPAR.<sup>4</sup> Os resultados de 7,4% dos animais reagentes demonstram a presença de Brucelose canina no município do Rio de Janeiro e suscitam a importância de maiores estudos desta zoonose.

**Palavras-chave:** brucelose, caninos, reprodução.

### Abstract

Serum samples of 497 dogs of both sexes, housed in Rio de Janeiro-Brazil were tested for anti-*Brucella canis* antibodies. The Agar-gel Immunodiffusion test using a *B. ovis* antigen was applied. Results of 7.4% of reactivity indicate the occurrence of the disease in Rio de Janeiro dogs and suggest new studies about their role in the reproductive performance of those animals.

**Keywords:** brucellosis, dogs, reproduction.

A brucelose é uma doença cosmopolita, infectocontagiosa, de caráter insidioso e crônico, causada por várias espécies do gênero *Brucella*, que afeta bovinos, caninos, suínos, ovinos e caprinos, além de mamíferos marinhos. É considerada uma doença da esfera reprodutiva por causar, como sintomas principais, abortamentos tardios ou subfertilidade em fêmeas e orquites, epididimite e subfertilidade a infertilidade em machos.

Pela possibilidade de infectar seres humanos e o grande número de cães nos centros urbanos, domiciliados ou errantes, a brucelose canina causada pela *Brucella canis* é uma zoonose que deve ser investigada com bastante profundidade. Muitos animais podem ser portadores sem nunca terem apresentado qualquer sintoma, a não ser uma falha reprodutiva. Seu primeiro isolamento foi feito após um surto de abortamento em um canil de Beagles ocorrido em 1966 nos EUA (Carmichael e Bruner, 1968). Desde então, episódios de abortamento causados pela brucelose canina têm sido relatados nas mais diversas raças, podendo ainda acometer gatos experimentalmente, e canídeos selvagens (Gese et al., 1997). A infecção se instala em uma a quatro semanas após o contato. Corrimentos vaginais, tecidos placentários e fetos abortados contêm grande número de microrganismos e o contato com estes materiais é a mais comum fonte de infecção oronasal (Gomes et al., 1999).

O microrganismo também pode ser encontrado no leite e nas secreções vaginais durante o estro. Os filhotes se contami-

nam principalmente a partir de secreções vaginais pelo leite ou via intrauterina. Os machos infectados apresentam grande quantidade de microrganismos no sêmen durante várias semanas e também eliminam pela urina, pois a bactéria pode se localizar no epidídimo e na próstata desses animais (Larsson e Costa, 1980). Recentemente, foi relatado o isolamento de *B. canis* em um cão com epididimite e orquite no Rio Grande do Sul (Gomes et al., 1999). Além dos sintomas da esfera reprodutiva, há relatos de sintomas oculares, tais como uveítes, lesões ósseas, discoespondilite, tanto em machos como em fêmeas (Brown et al., 1976). Em seres humanos, determina sintomatologia inespecífica, como cefaléia intensa, dores no corpo, febre intermitente (Gordon et al., 1985).

O primeiro relato sobre a ocorrência da enfermidade no Brasil ocorreu em Minas Gerais (Godoy et al., 1977), com soroaglutinação positiva e isolamento do agente de uma cadela que havia abortado recentemente. No Rio Grande do Sul, 12% das amostras foram reativas pela prova de soroaglutinação lenta (Wald e Fernandes, 1976/7). Levantamentos sorológicos demonstraram ainda 5,4% de reatividade em Campinas (Germano et al., 1987) e 22,7% em Pelotas, RS (Magalhães Neto et al., 1992). Um amplo estudo em São Paulo relatou 7,5% das amostras coletadas positivas e 1,3% das amostras testadas suspeitas (Cortes et al., 1988).

\* MVD, Mestranda do curso de Patologia e Reprodução da Faculdade de Veterinária da UFF.

\*\* MVD, MSc, Professor Assistente, Depto. Fisiologia e Farmacologia, Instituto Biomédico, UFF.

\*\*\* MVD, PhD, Professor Adjunto, Depto. Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, UFF.

\*\*\*\* Laboratório TECPAR, Instituto de Tecnologia do Paraná.

O método de diagnóstico mais utilizado é o indireto por sorologia, sendo confirmado por cultura e isolamento do agente a partir de secreções vaginais, placenta e restos de material abortado ou natimortos. Há estudos feitos a partir de cultura da urina de machos suspeitos, mas como a eliminação do microrganismo é intermitente, há grande possibilidade de ocorrência de falsos negativos (Larsson e Costa, 1980). Atualmente, testes de aglutinação rápida ou lenta com adição de 2-Mercaptoetanol estão disponíveis. Estes são eficientes para a identificação de animais não-reativos, embora resultados falso-positivos possam ocorrer. Os testes de imunodifusão em gel agarose (IDGA) têm sido bastante utilizados e, dependendo da qualidade do antígeno, seus resultados são seguros, com menor ocorrência de resultados falso-positivos, além de serem de fácil interpretação e realização (Molnár et al., 2001). Segundo Carmichael (Carmichael e Shin, 1996), os mais importantes critérios para escolha do teste sorológico são a natureza, pureza e especificidade do antígeno usado e sua sensibilidade.

Para este trabalho, foram coletadas em laboratórios particulares do Rio de Janeiro amostras sanguíneas de 497 animais, sem sintomatologia aparente, domiciliados no município do Rio de Janeiro, sendo 263 machos e 234 fêmeas. Como critério de seleção para a escolha dos animais, determinou-se que fossem cães em idade reprodutiva, um a nove anos de idade, diversas raças. As amostras foram identificadas e encaminhadas ao laboratório para centrifugação e obtenção do soro. Os soros foram armazenados a -20°C e, posteriormente, submetidos a provas sorológicas de imunodifusão em gel agarose (IDGA), com antígeno de membrana celular de *B. ovis*, desenvolvido pelo TEC PAR- Brasil. As provas foram aplicadas conforme as instruções do fabricante, bem como a manufatura do gel agarose. Resumidamente, preparava-se o gel utilizando-

se agarose (Sigma, USA), tampão borato, solução salina a 5% e azida sódica em proporções adequadas, sendo a mistura aquecida e vazada em placas de Petri. As amostras a serem testadas bem como os padrões positivos e o antígeno preconizado eram depositados com auxílio de pipetas automáticas em poços de 20 µl e incubados em câmara úmida a 25°C com leitura em 72 horas. Amostras hemolisadas não foram utilizadas neste experimento.

Os testes indicaram 37 soros reagentes, perfazendo um total de 7,4%. Do total de reativos, 23 eram machos e 15 fêmeas (62% e 38%, respectivamente). A diferença observada entre os sexos, no entanto, não se mostrou estatisticamente significativa ( $p>0,05$ ). Este achado está de acordo com Carmichel e Joubert (1988), que relataram que a diferença usualmente citada entre os sexos se aplicaria principalmente a cães errantes, se anulando no caso de animais domiciliados. O percentual de reações observadas está de acordo com as observadas em outros estados do Brasil, que usualmente se situam entre cinco e 8% de reatividade. No Rio de Janeiro, uma pesquisa envolvendo 171 cães das cidades do Rio de Janeiro e Niterói, apresentou 25,7% de soros reagentes, usando o mesmo antígeno que o presente trabalho. Segundo os autores, a alta ocorrência observada poderia estar relacionada com o reduzido número de animais utilizados para este propósito (Abbadia et al., 1999).

Uma vez que os resultados demonstraram a presença de 7,4% de soros reagentes em cães domiciliados no município do Rio de Janeiro, o que concorda com os achados de outros autores que realizaram estudos semelhantes em outras cidades do Brasil, faz-se importante ressaltar a necessidade de mais estudos epidemiológicos a respeito desta doença, visando a melhoria da qualidade de vida desses animais e da população exposta ao risco de mais uma zoonose.

## Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a colaboração dos Laboratórios CAD (Centro de Apoio Diagnóstico) e Laborlife, do Rio de Janeiro.

## Referências

- ABBADIA, F.; MAIA, G. R.; MORAES, I. A.; ROSSI, C. R. S.; VIEIRA, D.K. Prevalência de Brucelose canina no Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Reprodução animal*, v. 23, n. 3, p. 425-427, 1999.
- BROWN, J.; BLUE, J. L.; WOOLEY, R. E.; DRESSEN, D. W. *Brucella canis* infectivity rates in stray and pet dogs populations. *American Journal of Public Health*, v. 66, n. 9, p. 889-891, 1976.
- CARMICHAEL, L. E.; BRUNER, D. W. Characteristics of a newly recognized species of *Brucella* responsible for infectious canine abortions. *Cornell Veterinary*, v. 58, n. 4, p. 579-592, 1968.
- \_\_\_\_\_; JOUBERT, J. C. A rapid slide agglutination test for the serodiagnosis of *Brucella canis* infection that employs a variant M-organism as antigen. *Cornell Veterinary*, v. 77, p. 3-12, 1988.
- \_\_\_\_\_; SHIN, S. J. Canine Brucellosis: a Diagnostician Dilemma. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery Animal (small animal)*, v. 11, n. , p. 161-165, 1996.
- CORTES, V. A.; OLIVEIRA, M. C. G.; ITO, F. H.; VASCONCELLOS, S. A. Reações sorológicas para *Brucella canis* em cães errantes capturados nas proximidades dos parques públicos, reservas florestais e em áreas periféricas do município de São Paulo -Brasil. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo*, v. 25, n. 1, p. 101-107, 1988.
- 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 Universidade de São Paulo*, v. 24, n. 1, p. 27-34, 1987.
- GESE, E. M.; SCHULTZ, R. D.; JHONSON, M. R.; WILLIAMS, E. S.; CRABTREE, R. L.; RUFF, R. L. Serological survey for disease in free ranging Coyotes (*Canis latrans*) in Yellowstone National Park, Wyoming. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 33, n. 1, p. 47-56, 1997.
- GODOY, A. M.; PEREZ, J. N.; BARG, L. Isolamento de *Brucella canis* em Minas Gerais- Brasil. *Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG*, v. 29, n. 1, p. 35-42, 1977.
- GOMES, M.; DRIEMEIER, D.; SOARES, H. C.; BASTOS, C. D.; CANTO, S. P.; BRUM, M.; ROSSI, A. C.; CORBELLINI, L. G. *Brucella canis*: isolamento em um cão com epididimite e orquite - relato de caso. *Clinica Veterinária*, n. 18, p. 17-20, 1999.
- GORDON, J. C.; PUE, H. L.; RUTGERS, H. C. Canine Brucellosis in a Household. *JAVMA*, v. 186, n. 7, p. 697-698, 1985.
- LARSSON, M. H.; COSTA, E. Isolation of *Brucella canis*. *International Journal of Zoonosis*, v. 7, p. 125-130, 1980.
- MAGALHAES NETO, A.; CRUZ, F. W.; SANTOS, F.; GIL-TURNES, C.; ALEIXO, J. A. G.; MARTINS, L. F. S.; BROD, C. S.; GURVITZ, R. Prevalência de humanos e caninos reatores a brucela rugosa no município de Pelotas-RS. CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINARIA, 11., 1992, Gramado, RS. *Anais...*, p. 92.
- MOLNÁR, L.; MOLNÁR, E., CARVALHO, M. Capacidade de algumas provas sorológicas no Diagnóstico de Brucelose Canina. *A Hora Veterinária*, v. 21, n. 121, p. 45-49, 2001.
- WALD, V. B.; FERNANDES, J. C. T. Sorologia da brucelose canina no município de Porto Alegre-RS. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*, v. 4-5, p. 92-95, 1976-1977.