



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E  
PRODUÇÃO ANIMAL NA AMAZÔNIA**

**ELIANE DE NAZARÉ LIMA DE ANDRADE**

**PESQUISA DE ANTICORPUS ANTI-BRUCELLA CANIS E ANTI-  
BRUCELLA ABORTUS EM CÃES (CANIS FAMILIARIS) DA REGIÃO  
METROPOLITANA DE BELÉM E ILHA DE MARAJÓ, ESTADO DO  
PARÁ**

**BELÉM  
2012**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E  
PRODUÇÃO ANIMAL NA AMAZÔNIA**

**ELIANE DE NAZARÉ LIMA DE ANDRADE**

**PESQUISA DE ANTICORPUS ANTI-BRUCCELLA CANIS E ANTI-  
BRUCCELLA ABORTUS EM CÃES (CANIS FAMILIARIS) DA REGIÃO  
METROPOLITANA DE BELÉM E ILHA DE MARAJÓ, ESTADO DO  
PARÁ**

**Dissertação apresentada à Universidade  
Federal Rural da Amazônia, como parte  
das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Saúde e Produção Animal  
na Amazônia: área de concentração Saúde  
e Meio Ambiente, para obtenção do título  
de Mestre.**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Nazaré Fonseca  
de Souza**

**BELÉM  
2012**

---

Andrade, Eliane de Nazaré Lima de

Pesquisa de anticorpos anti-Brucella canis e anti-Brucella abortus em cães (Canis familiaris) da região metropolitana de Belém e Ilha de Marajó, Estado do Pará./Eliane de Nazaré Lima de Andrade. - Belém, 2012.

47f.:il.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) –  
Universidade Federal Rural da Amazônia, 2011.

1. Canídeos 2.Sorologia 3. Amazônia I. Título.

CDD - 636.70896957

---



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E**  
**PRODUÇÃO ANIMAL NA AMAZÔNIA**

**ELIANE DE NAZARÉ LIMA DE ANDRADE**

**PESQUISA DE ANTICORPUS ANTI-BRUCELLA CANIS E ANTI-BRUCELLA ABORTUS EM CÃES (CANIS FAMILIARIS) DA REGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM E ILHA DE MARAJÓ, ESTADO DO PARÁ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração Saúde e Meio Ambiente, para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 23 de agosto de 2012.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Nazaré Fonseca de Souza- Orientadora  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

---

Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup> Andrea Maria Góes Negrão - 1º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

---

Prof. Dr. Alexandre do Rosário Casseb - 2º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

---

Prof. Dr. Andre Marcelo Conceição Meneses -3º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

## AGRADECIMENTOS

A DEUS força sublime que me orienta e conforta, dando-me discernimento para distinguir o certo e o errado.

Aos meus queridos pais Odilando Dias Lima e Emiliana Nunes Lima e irmãos Elaine, Leandro, Ari e Camila pelo amor, carinho e apoio durante toda a minha trajetória no meu curso de Mestrado.

Ao meu esposo Arnaldo Andrade, que é o grande amor da minha vida, o qual agradeço de coração toda atenção, carinho e compreensão nos dias difíceis.

Aos meus colegas do Mestrado do Programa de PGSPA, Gilmara Abreu, Monique Araújo, Gláucia Mota, Mônica Riehl, Darlene Kássia, Yara Cintia, Zuleide, Paula, Sheyla, Felipe, Marcello, Heriberto Figueiredo, Darley, Valdjanio e Ricardo que me proporcionaram conhecer o verdadeiro significado da palavra companheirismo.

Ao Hospital Veterinário da UFRA, Projeto Vida Digna, Ação PET/2010, Canis, Clínicas Particulares e Abrigos da Região Metropolitana de Belém e Sociedade Bíblica do Brasil, pelo apoio nos trabalhos de campo.

Aos colegas do Laboratório de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Instituto de Saúde e Produção Animal da UFRA, Sandro Patroca, Izaura, Natacha, Larissa Seixas, Renata Kelly, Dinayara Fragoso e Flávia Matos pelo apoio na área laboratorial e aos colegas das Clínicas que participaram da realização desse projeto, pelo apoio nos trabalhos de campo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação, pelos conhecimentos compartilhados e pela oportunidade de conhecer novos caminhos. Em especial, à minha orientadora e amiga professora Dr<sup>a</sup>. Nazaré Fonseca de Souza, pessoa de grandeza exemplar, com o qual tive a oportunidade de trabalhar junto.

A esta universidade que me acolheu e proporcionou a realização de um sonho e a CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

## SUMÁRIO

	<b>RESUMO</b>	<b>6</b>
	<b>ABSTRACT</b>	<b>7</b>
<b>1</b>	<b>CONTEXTUALIZAÇÃO</b>	<b>8</b>
1.1	REVISÃO DE LITERATURA	9
1.1.1	<b>Histórico da Brucelose</b>	<b>9</b>
1.1.1.2	HÁBITAT	9
1.1.1.3	ETIOLOGIA	10
1.1.1.4	PATOGENESE E PATOGENICIDADE	11
1.1.1.5	EPIDEMIOLOGIA	12
1.1.1.6	TRANSMISSÃO E SINAIS CLÍNICOS	13
1.1.1.7	DIAGNÓSTICO	14
1.1.1.8	IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E SAÚDE PÚBLICA	15
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>PESQUISA DE ANTICORPUS ANTI-Brucella canis E ANTI-Brucella abortus EM CÃES (Canis familiaris) DA REGIÃO METROPOLIANA DE BELÉM E IHA DE MARAJÓ, ESTADO DO PARÁ</b>	<b>21</b>
	<b>ABSTRACT</b>	<b>21</b>
	<b>RESUMO</b>	<b>22</b>
	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>22</b>
	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>23</b>
	<b>RESULTADOS</b>	<b>25</b>
	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>25</b>
	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>28</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>28</b>
<b>3</b>	<b>OCORRÊNCIA DE ANTICORPUS ANTI-BRUCELLA CANIS E ANTI-BRUCELLA ABORTUS EM CÃES (CANIS FAMILIARIS) DA ILHA DO MARAJÓ, ESTADO DO PARÁ</b>	<b>35</b>
	<b>RESUMO</b>	<b>35</b>
	<b>ABSTRACT</b>	<b>35</b>
	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>36</b>
	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>37</b>

<b>Área de Estudo</b>	<b>37</b>
<b>Amostras</b>	<b>37</b>
<b>Testes Sorológicos</b>	<b>37</b>
<b>Análise Estatística</b>	<b>38</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>38</b>
<b>DISCUSSÃO</b>	<b>39</b>
<b>CONCLUSÕES</b>	<b>41</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b>	<b>41</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>42</b>
<b>CONCLUSÕES GERAIS</b>	<b>46</b>

## RESUMO

A brucelose canina caracteriza-se por ser uma doença infecto-contagiosa crônica que acomete várias espécies de animais domésticos, silvestres e também o homem. A infecção de cães, na maioria dos casos, é ocasionada pela *Brucella canis*, no entanto, a *Brucella abortus* pode estar envolvida. Este trabalho teve como objetivo identificar a ocorrência de anticorpos anti-*Brucella canis* e anti-*Brucella abortus* em cães da Região Metropolitana de Belém e Ilha de Marajó, estado do Pará, e descrever sua ocorrência em 3 municípios na Ilha do Marajó: Arari, Breves e Portel. Foram utilizadas 1.400 amostras de soros de cães, sendo 637 machos e 763 fêmeas. Provenientes de Clínicas Particulares (607), do Centro de Controle de Zoonoses (215), Ação Pet 2010 (199), Canis Particulares (107), Hospital Veterinário e Projeto Vida Digna (87), Abrigos (56) e da Região de ilha do Marajó (129), com padrão e sem padrão de raças definida; a idade dos animais variou de 1 à 17 anos e não apresentavam sintomatologia clínica da enfermidade. A colheita foi realizada no período de 2010 a 2012. Os métodos utilizados foram a soroprecipitação rápida com Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) para a pesquisa de anti-*Brucella abortus* e Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) para a pesquisa de anti-*Brucella canis*. Obtendo-se 17,1% de soropositividade para anti-*Brucella abortus* e 1,1% para anti-*Brucella canis*.

**Palavras-chave:** canídeos, sorologia, Amazônia

## ABSTRACT

The dog brucellosis is characterized as a contagious infectious illness attacks various domestical animals species, sylvan and also men. The dog infection, in majority of the cases, is occasioned by *Brucella canis*, but, *Brucella abortus* can also be involved. This job has as aim identify the occurrence of anti-*Brucella canis* and anti-*Brucella abortus* antibodies on Belém metropolitan region and Marajó island, on Pará State, and to describe its occurrence in 3 cities on the Island of Marajó: Arari, brief and Portel. Were used 1,400 dog serum samples, being 637 male and 763 female. Originated from particular Clinics (607), from Zoonoses Control Center (215), Ação Pet 2010 (199), particular kennels (107), veterinary hospital and Project Worthy Life (87), Cotes (56), and from Marajó island region (129), with and without race pattern defined, animals age did vary from 1 to 17 years old and didn't present clinical symptomology infirmity. The swab occurred from 2010 a 2012. The utilized methods were a fast soroagglutination with a plugged acidified antigen (AAT) and imunodiffusion on Agar gel (IDGA), obtaining 17.1% of soropositivity to anti-*Brucella abortus* and 1.1% to anti-*Brucella canis*.

**Key-words:** canids, serology, Amazon

## 1 CONTEXTUALIZAÇÃO

A urbanização e mudanças sociais da população humana nas últimas décadas favoreceram o aumento da população canina nos países em desenvolvimento (SOUZA et al., 2002). De acordo com ROJAS (1976), as grandes migrações humanas do campo para a cidade, a formação de conglomerados marginais urbanos e os problemas sociais levaram ao incremento da população canina. Esse aumento, associado com as relações sentimentais e emocionais do homem com o cão, tem implicações na saúde pública, pois o animal pode ser responsável pela transmissão de várias zoonoses, dentre elas a brucelose (AZEVEDO et al., 2004a). Sabendo que a brucelose canina representar um achado de importância em saúde pública, e por tratar-se de uma zoonose (KEID, 2006), os animais de companhia devem ser testados a essa enfermidade, pois ela assume crescente importância nos grandes centros urbanos (MAIA et al., 1999).

A brucelose canina é uma doença infecto-contagiosa, de caráter zoonótico caracterizada, principalmente, por abortamentos e esterilidade nas fêmeas e orquite e epididimite nos machos, tendo como principal agente a *Brucella canis* (CARMICHAEL & GREENE, 1998), podendo ser acometidos pela *Brucella abortus*. Além disso, tal infecção é de ocorrência esporádica e, geralmente, resulta do contato de cães da zona rural com produtos de origem animal contaminado ou da ingestão de restos placentários e de fetos abortados (CARMICHAEL & GREENE, 1998).

Considerando o caráter zoonótico da brucelose canina, sua interferência na vida reprodutiva do animal e a grande inserção dos cães na sociedade, assim como a escassez de informações sobre essa infecção em cães na região Amazônica, o presente trabalho teve por objetivo verificar a ocorrência de anticorpos anti-*Brucella canis* e anti-*Brucella abortus* em cães (*Canis familiaris*) da Região Metropolitana de Belém e Ilha do Marajó, estado do Pará, e descrever sua ocorrência em 3 municípios na Ilha do Marajó: Arari, Breves e Portel.

A seguir, apresentaremos a revisão da literatura atualizada pertinente ao tema, a qual será utilizada como referencial teórico. Posteriormente, apresentaremos dois artigos relacionados, os quais foram submetidos à Revista Brasileira de Medicina Veterinária e à Biotemas, respectivamente. O primeiro investigou a ocorrência de anticorpos anti-*Brucella canis* e anti-*Brucella abortus* em cães (*Canis familiaris*) da Região Metropolitana de

Belém e Ilha do Marajó, estado do Pará. O segundo levantou a ocorrência dos referidos anticorpos em cães em três localidades na Ilha do Marajó, estado do Pará.

## 1.1 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1.1 Histórico da Brucelose

A brucelose também conhecida como Doença de Bang, Febre de Malta e Febre Ondulante foi, primeiramente, descrita por Sir David Bruce, Médico do exército Inglês, em 1886, a partir de necropsia de soldados ingleses acometidos por essa enfermidade na Ilha de Malta (no Mar Mediterrâneo). Um ano depois esse mesmo autor isolou em meios de cultura uma bactéria que denominou de *Micrococcus melitensis* (CORRÊA & CORRÊA, 1995; ROMICH, 2008).

De acordo com o levantamento histórico de CORRÊA & CORRÊA (1995), Wright (1896) foi o primeiro idealizador de uma prova de soro-aglutinação lenta como teste diagnóstico para a brucelose; em 1897, Bang e Stribolt cultivaram e isolaram esse agente a partir de abortos bovinos; em 1905, Zammit identificou cabras soropositivas utilizando o teste desenvolvido por Wright, e isolou o agente no leite dos animais originários de Malta; em 1914, Traum isolou o agente em suínos; alguns anos depois Evans, em 1918, propôs mudança do gênero para *Brucella* em homenagem a Bruce; em 1953, Buddl e. Boyes isolaram em ovinos na Austrália; em 1957, Stoenner e Lachman identificaram o agente em um rato do deserto, nos EUA; e em 1966, Carmichael isolou o agente em cães dos EUA. Na década de 90, Ross et al. (1994) identificaram bactérias do gênero *Brucella* em mamíferos marinhos.

#### 1.1.1.2 HÁBITAT

As bactérias de *Brucella* sp. têm predileção por órgãos reprodutivos de fêmeas e machos em idade de reprodução, sendo que cada espécie tende a infectar uma espécie animal em particular (Tabela 1). Esses animais infectados servem como reservatório de

infecção e os micro-organismos eliminados por eles permanecer viáveis em meio ambiente úmido por muitos meses (QUINN et al., 2005). Martinez (1984) referiu que uma das características que torna a brucelose uma doença preocupante é o fato da bactéria se desenvolver com facilidade em ambientes frios e úmidos, o que lhe permite ter grande permanência no solo. A resistência dessa bactéria se eleva quando em presença de matéria orgânica abundante, o que pode acarretar graves problemas à saúde pública.

Tabela 1. Descrição das espécies bacterianas causadoras de brucelose (*Brucella* sp.), seus hospedeiros e significado clínico da infecção. Modificado de QUINN et al. (2005) e complementado por Ross et al. (1994)

<b>Espécie</b>	<b>Hospedeiro comum: importância clínica</b>	<b>Hospedeiro ocasional: importância clínica</b>
<i>B. abortus</i>	Bovinos: abortos e orquítes	Ovinos, caprinos, suínos: aborto esporádico Equinos: bursites Humanos: Febre Intermitente, doença sistêmica
<i>B. melitensis</i>	Caprinos, ovinos: aborto, orquíte, artrite	Bovino: aborto esporádico, bactérias no leite Humanos: Febre de Malta, doença sistêmica grave
<i>B. suis</i>	Suíno: aborto, orquíte, artrite, espondilite infertilidade	Humanos: Febre de Malta, doença sistêmica grave
<i>B. ovis</i>	Ovinos: abortamento esporádico em ovelhas e epididimite em carneiros	
<i>B. canis</i>	Cães: abortamento, epididimite, discospondilite e esterilidade em cães machos	Humanos: doença sistêmica moderada
<i>B. neotamae</i>	Ratos do deserto: não isolado em animais domésticos	
<i>B. maris</i>	Focas, botos, golfinhos, baleias Minke e outros	
<i>B. cetaceae</i>	Cetáceos	
<i>B. pinnipediae</i>	Focas	

### 1.1.1.3 ETIOLOGIA

De acordo com QUINN et al. (2005), as bactérias do gênero *Brucella* se apresentam como cocobacilos Gram-negativos (0,6 x 0,6 - 1,5 µm) e imóveis, tendo a capacidade de resistir ao ácido acético à 0,5% na coloração de Ziehl-Neelsen modificado. São parasitas intracelulares facultativos, com morfologia de cocobacilos Gram-negativos, imóveis;

podem se apresentar em cultivos primários com morfologia colonial lisa ou rugosa (rugosa estrita ou mucóide). Essa morfologia está diretamente associada à composição bioquímica do lipopolissacarídeo da parede celular, e para algumas espécies tem relação com a virulência. As colônias passam de lisas para rugosas, o que resulta na perda da virulência e menor reatividade com os anticorpos (KONEMAN et al., 2001).

A espécie *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis* normalmente apresentam uma morfologia de colônia do tipo lisa, quando evoluem para formas rugosas ou mucóides, deixam de ser patogênicas. Já as espécies *B. ovis* e *B. canis* apresentam uma morfologia de colônia permanentemente do tipo rugoso ou mucóide (QUINN et al., 2005), e a presença de apenas uma parte da população positiva para *B. canis* é o suficiente para se considerar um problema de importância epidemiológica, considerando o caráter zoonótico da enfermidade (SOUZA et al., 2002).

#### 1.1.1.4 PATOGENESE E PATOGENECIDADE

Em geral, a transmissão da brucelose ocorre pela ingestão de água e pastos contaminados por secreções e restos de membranas fetais, mas também pode ocorrer por meio de contato direto do material infeccioso através da penetração da pele e/ou por membrana vaginal ou conjuntiva (JONES et al., 2000).

Após a entrada no hospedeiro, a *Brucella canis* é fagocitada por macrófagos e outras células fagocitárias. Ela resiste às enzimas produzidas pelos fagócitos e é transportada para os linfonodos regionais, podendo causar linfadenopatia periférica (AZEVEDO et al., 2004b), a partir dos linfonodos regionais, os microrganismos disseminam-se por via hematogena e podem se localizar no fígado, baço e no trato reprodutivo (HIRSH & ZEE, 2003).

As bactérias persistem dentro de macrófagos, mas não dentro de neutrófilos. Essa persistência se dá, principalmente, pela inibição da função fagossomo-lisossomo, garantindo assim a sobrevivência intracelular. Esse mecanismo de resistência intracelular pode se estabelecer como um reservatório de microrganismos viáveis para contaminação de outros animais ou até mesmo do homem (CAMPBELL et al., 1994; QUINN et al., 2005).

Os órgãos de predileção pelas bactérias são os que possuem maior disponibilidade de elementos necessários para seu metabolismo, tais como, o eritritol (álcool polihídrico de

quatro carbonos), que está presente no útero gravídico, sendo que a partir do quinto mês de gestação a concentração do eritritol se eleva, atingindo níveis máximos com a aproximação do parto e estimulando a multiplicação da bactéria de forma crescente. Esse fator de crescimento também é encontrado na glândula mamária e epidídimo que são alvos da *Brucella* sp., sendo que em casos crônicos esse microrganismo pode se localizar nas articulações e nos discos intervertebrais (PAULIN, 2003). Por fim, as bactérias podem se localizar nas articulações, nas bainhas tendinosas e nas mucosas. Existe uma universalidade da localização da *Brucella* sp., e essas não poupam tecidos ou órgão, e podem provocar lesões desde a pele até o sistema nervoso central (CORRÊA, 1975).

#### 1.1.1.5 EPIDEMIOLOGIA

A infecção de cães por *Brucella canis* é relatada em praticamente todos os países, com prevalência variável segundo a região e o método de diagnóstico empregado, podendo assim afirmar que ela apresenta distribuição mundial (CARMICHAEL & GREENE, 1993). A brucelose foi constatada na América, Europa, Ásia e África (CARMICHAEL, 1990). Os cães também se apresentam susceptíveis à infecção pela *B. abortus*, principalmente, em ambientes rurais, quando em contato com espécies potencialmente acometidas (FORBES, 1990).

Os dados no Brasil sobre a ocorrência da brucelose canina causada por *B. canis* ou *B. abortus* são pontuais e são baseados em exames laboratoriais, em geral, através de testes sorológicos, relacionando região, população, animal examinado e teste empregado. MIRANDA et al. (2005) salientaram que esses dados não devem ser diretamente comparados por conta da grande diferença no delineamento amostral, sendo que DORNELES et al. (2011) reportaram que esses estudos divergiam, entre animais de canis, de companhia e errantes.

No estado do Pará, FONSECA et al. (1999) encontraram soropositividade para *B. canis* (14,6%) em diferentes grupos populacionais da cidade de Belém. CARVALHO et al. (2000) relataram a ocorrência da infecção pela *B. canis* no estado do Pará (45,34%) com destaque para a cidade de Belém (51,94%), onde foram utilizadas 236 amostras em suas análises.

Os trabalhos de prevalência são importantes, pois evidenciaram que a infecção por *B. canis* está disseminada em todo país. Portanto, existe a necessidade de se estabelecer o correto diagnóstico da infecção, haja vista ser fundamental o controle e manutenção do animal livre dessa doença, assim como, o canil. Entretanto, a brucelose canina não é frequentemente diagnosticada devido às dificuldades encontradas. Nesse contexto, deve ser dada devida atenção à brucelose canina, doença prevalente no Brasil, que acarreta problemas reprodutivos em machos e fêmeas, prejuízos a criadores de cães e ainda causa de importante zoonose (LAGE et al., 2005).

#### 1.1.1.6 TRANSMISSÃO E SINAIS CLÍNICOS

ETTINGER & FELDMAN (2005) salientaram que a *B. canis* é mais comumente transmitida por via venérea, penetrando nas mucosas e ingressando no sistema linfonodoreticular. Geralmente, ela é transmitida durante o cruzamento ou após o abortamento, sendo observada no sêmen e na urina, bem como, no material abortado das fêmeas infectadas, e pode se disseminar em tecidos não-reprodutivos, tais como, discos intervertebrais, olhos e rins. As infecções brucélicas nos animais domésticos estão associadas, principalmente, a problemas reprodutivos como abortamentos, nascimento de crias fracas e baixa fertilidade (POESTER, 2009).

ALDAHOUK et al. (2010) classificaram a bactéria na categoria B de bioterrorismo e reportaram a possibilidade da infecção através da manipulação de material positivo. Relatos de casos em humanos infectados foram associados ao contato com cães (MIRANDA et al., 2005) manifestando-se, principalmente, em tratadores de cães e em proprietários de cães infectados (SUZUKI et al., 2008). A infecção é transmitida por contato direto e indireto com animais infectados, através de tecidos fetais abortados, descargas vaginais do parto ou do abortamento, assim como na urina (SALGADO, 2006; OLIVEIRA et al., 2010). Em 2010, KAO et al. relataram dois casos em humanos no Japão e, em 2011, LAWACZECK et al. relataram um caso positivo para *B. canis* em paciente com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida no Arizona (EUA).

As manifestações clínicas são variadas e os animais infectados, geralmente, permanecem clinicamente normal (GOMES et al., 1999), não apresentando, portanto, sintomas patognomônicos (MOORE & GUPTA, 1970). Muitos animais se recuperam espontaneamente,

mas continuam eliminando a bactéria na urina e/ou secreção vaginal (KONEMAN et al., 2001). Entre as fêmeas de bovinos e bubalinos, a enfermidade caracteriza-se por abortamento no terço final da gestação, retenção de placenta, corrimento vaginal, morte embrionária, natimortos e/ou nascimento de filhotes fracos. Nos machos, a brucelose apresenta-se sob as formas de orquite, prostatite, atrofia testicular uni ou bilateral, dermatite de bolsa escrotal, anormalidades espermáticas, infertilidade, hepato e esplenomegalia e uveíte (CARMICHAEL & GREENE, 1998).

#### 1.1.1.7 DIAGNÓSTICO

De acordo com ALMEIDA et al. (2008), o diagnóstico da infecção não se estabelece somente com exame clínico, ou seja, a suspeita clínica auxilia. No entanto, o diagnóstico tem sido baseado em métodos diretos (cultura) e indiretos (testes sorológicos). No diagnóstico da brucelose canina, a sorologia é bastante empregada, ainda que apresente problemas referentes à disponibilidade de antígenos e kits e esses estejam sujeitos a erros de interpretações devido a reações cruzadas com outros microrganismos (MINHARRO et al., 2005). Nesse sentido, raras enfermidades infecciosas apresentam tanta variedade diagnóstica como a brucelose.

Os métodos sorológicos mais utilizados se baseiam em técnicas de aglutinação e/ou precipitação contra antígenos de *B. ovis* ou *B. canis*, pois essas espécies compartilham antígenos de superfície e são utilizadas para o diagnóstico da brucelose canina (KEID, 2006). Atualmente, existem outros métodos propostos para detecção da infecção no cão, dentre eles o método de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (OLIVEIRA et al., 2010). De acordo com SILVA et al. (2012), o diagnóstico por PCR é indicado como teste confirmatório para a infecção. O cultivo bacteriano fornece um diagnóstico definitivo quando a bactéria é isolada; no entanto, é um procedimento laborioso, demorado e pode resultar em resultados falso-negativos (AZEVEDO et al., 2004b).

A Soro-Aglutinação Lenta em tubo (SAL), Soro-Aglutinação Rápida em placa (SAR), com ou sem adição de 2-mercaptoetanol, são as técnicas sorológicas mais utilizadas, sendo indicadas para procedimentos de triagem (MINHARRO et al., 2005), Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA), teste confirmatório para o diagnóstico da enfermidade (MINHARRO et al., 2005) e Fixação de Complemento (CFT) (AZEVEDO,

2004). A CFT é amplamente utilizada para diagnosticar a infecção por *B. ovis* e *B. abortus* (AZEVEDO et al., 2004b). O teste sorológico mais empregado no Brasil é a IDGA (CAVALCANTE et al., 2006), podendo ser utilizado com antígenos de parede celular (LPS) ou antígenos de proteínas citoplasmáticas (PC) (MINHARRO et al., 2005).

#### 1.1.1.7 IMPORTÂNCIA ECONOMICA E SAÚDE PÚBLICA

A brucelose canina é uma zoonose e apresenta importância devido a sua ocorrência. Sua disseminação é rápida podendo acometer um elevado número de animais, causando problemas de cunho econômico, decorrente de perdas reprodutivas. Dentre os problemas citados, o estreito convívio estabelecido entre cão e o homem, tem caráter persistente e causa grande impacto a nível sócio econômico. Assim sendo, a brucelose torna-se um problema grave de saúde pública (BRASIL, 2009). Portanto, não só o diagnóstico clínico e terapêutico são importantes, como também, o conhecimento de sua epidemiologia e rastreio dos reservatórios (CARVALHO et al., 2000).

## REFERÊNCIAS

ALDAHOUK S.; SCHOLZ, H C.; TOMASO, H.; BAHN, P.; GOLLNER, C.; KARGES, W.; APPEL, B.; HENSEL, A.; NEUBAUER, H.; NOCKLER, K. Differential Phenotyping of *Brucella* species using a newly developed semi-automated metabolic system. **BMC Microbiology**, n.10, p. 269, 2010. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/10/269> Acesso em: 8 de abril de 2012.

ALMEIDA, J. **Brucelose canina: Revisão de Literatura**. 2008, 30f. Monografia (Especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais), Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

AZEVEDO, S. S.; VASCONSELOS, A. S.; ALVES, C. J. Brucelose Canina por *Brucella canis*. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**, N.31, 2004a, p.38-45.

AZEVEDO, S. S.; VASCONSELOS, A. S.; KEID, L. B.; GRASSO, L. M. P. S.; PINHEIRO, S.R.; MASCOLLI, R.; ALVES, C. J. Comparação de três testes sorológicos aplicados ao diagnóstico da infecção de caninos por *Brucella canis*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 41, n. 2, 2004b, p. 1-14.

CAMPBELL, G. A.; ADAMS, L. G.; SOWA, B. A. Mechanisms of binding of *Brucella abortus* to mononuclear phagocytes from cows naturally resistant or susceptible to brucellosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. vol. 41, Issues 3-4, June 1994, p. 295-306.

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

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.; GREENE, G. E. Brucelosis canina. In: GREENE, G.E. **Enfermedades infecciosas perros y gatos**. México: Interamericana Mc Graw Hill, 1993. Sec. III, chap. 52, p. 604-16.

CARVALHO, M. R.; MOLNÁR, L.; MOLNÁR, E. ; DIAS, H.L.; LIMA, E. S. C. Ocorrência da *Brucella canis* e *Brucella abortus* em cães criados no estado do Pará. **Revista Ciência Agrária**, n.34, 2000, p. 69-76.

CAVALCANTE, L. A.; DASSO, M. G.; OLIVEIRA, F. C. S.; VIEGAS, S. A. R. A.; ALMEIDA, M. G. A. R.; ANUNCIACÃO, A. V. M.; ALCANTRA, A.C.; BITENCOURT, D. V. V.; OLIVEIRA, E. M. D. Pesquisa de anticorpos anti-Brucella canis em cães provenientes da região metropolitana de Salvador. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 7, n. 2, 2006, p. 176-180.

CORRÊA, O. **Doenças Infecciosas dos Animais Domésticos** 2 ed., Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1975, p. 196-228.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2 ed., Rio de Janeiro: Médica e Científica, 1995, p. 195-215.

DORNELES E. M. S.; SANTOS, H.; MINHARRO, S.; NASCIMENTO-ROCHA, J. M.; MATHIAS, L. A.; DASSO, M. G.; TIENSOLI, C. D.; HEINNEMAN, B. M.; LAGE, A.P. Anticorpos anti Brucella canis e anti Brucella abortus em cães de Araguaína, Tocantins. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** São Paulo, V.48, n.2, 2011, p. 167-171.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. Tratado de Medicina Interna Veterinária: Doenças do cão e do gato. In: **Doenças Bacterianas**, 5 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p. 410-421.

FONSECA, L.S; MOLNAR, É.; MOLNAR, L; LIMA, E. S. C; Prevalência da Brucelose em diferentes grupos populacionais da cidade de Belém- PA. **Revista Paraense de Medicina Veterinária**. V.12, 1999, p. 23-28.

FORBES, L. B. Brucella abortus Infection in 14 Farm Dogs. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.196, 1990, p. 911-916

GOMES, M. J. P.; 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. **Clínica Veterinária**, v. 4, n. 18, 1999, p. 17-20.

HIRSH, D. C; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. 2 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6 ed., Barueri: Manole, 2000, p. 454-557.

KAO, T. M.; WU, U. I.; CHEN, Y. C. Human Brucella canis infections diagnosed by blood culture. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, n.7, 2010, p.1183-1185. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/eid/content/16/7/pdfs/1183.pdf>>. Acesso em: 12 de julho de 2012. Doi:10.3201/eid1607.100105.

KEID, L. B. **Avaliação de métodos diretos e indiretos de diagnóstico de brucelose em cães naturalmente infectados**. 2006. 134f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses - Curso de Pós-graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses), Universidade de São Paulo. Disponível em: <<http://www.cipedya.com/doc/169084>>. Acesso em: 11 de maio de 2010.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN Jr., W. C. **Diagnóstico microbiológico**. 5 ed., Rio de Janeiro: MEDSI, 2001, p. 442-447.

LAGE, A.P; POESTER, F.P; GONÇALVES, V. S. P; ROXO, E; MÜLLER, E.E; CAVALLÉRO, J. C. M; FERREIRA-NETO, J.S; MOTTA, P. M. P.C; FIGUEIREDO, V. C.F; LÔBO, J.R; Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose. **Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia**. n. 47, 2005, p. 99-110.

LAWACZECK, E.; TOPEREK, J.; CWIKLA, J.; MATHISON, B.A. Case Report- Brucella canis in a HIV-Infected Patient. **Zoonoses Public Health**. N. 58, 2011, p. 150–152.  
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. **Rev. Bras. Reprodução. Animal**. V.23, n.3, 1999, p. 425-427.

MARTINEZ, C. **Guia del Inspector veterinário** .V 2, p. 50-56. 2ªed. Biblioteca Agrícola. Barcelona, 1984.

MINHARRO, S; COTORELLO, A. C. P.; MIRANDA, K. L.; STYNEN, A. P. R.; ALVES, T. M.; LAGE, A. P.; Diagnóstico da brucelose canina: dificuldades e estratégias. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 29, n. 3/4, 2005, p. 167-173.

MIRANDA, K. L.; COTTORELLO, A. C. P.; POESTER, F. R.; LAGE, A. P. Brucelose canina. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, n. 47, 2005, p. 66-82.

MOORE, J. A.; GUPTA, B. N. Epizootiology, Diagnosis, and Control of Brucella canis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 156, 1970, p. 1737-40.

OLIVEIRA M. Z. D.; OLIVEIRA, D.; VALE, V.; KEID, L.; FREIRE, S.M.; MEYER, R.; PORTELA, R. W.; MELO, S. M. B. Validation of an ELISA method for the serological diagnosis of canine brucellosis due to *Brucella canis*. **Research in Veterinary Science**, n. 90, 2010, p. 425-431. Disponível em: <[http:// www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528810002407](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528810002407)>. Acesso em: 29 de janeiro de 2011.

PAULIN, L. M. Brucelose. **Arquivo do Instituto de Biologia**, São Paulo-SP, v. 70, n. 2, abr./jun. 2003, p. 239-249.

POESTER, F.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; GONÇALVES, V. S. P.; LAGE, A. P.; ROXO, E.; MOTA, P. M. P. C.; MÜLLER, E. E.; FERREIRA NETO, J. S. Estudos de prevalência da brucelose bovina no âmbito do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 61, supl. 1, 2009, p. 1-5.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. São Paulo: Artmed, 2005, p. 166-171.

ROJAS, R. A. Algumas zoonosis. In: ROJAS, R.A. **Epidemiologia**. Buenos Aires: Intermédica, v. 2, 1976, p. 369- 384.

ROMICH, J.A. **Understanding: zoonotic diseases**. Clifton Park, NY: Thomson Delmar. 2008, 701f.

ROSS, H. M.; FOSTER, G.; REID, R. J.; JAHANS, K. L.; MACMILLAN, A. P. *Brucella* species infection in sea-mammals. **Veterinary Record**.134, 1994, p. 359.

SALGADO, V. R. **Avaliação das técnicas de cultivo microbiológico e soroglutinação rápida em cartão com e sem 2-mercaptoetanol no diagnóstico da brucelose canina**. 2006. 146f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Curso de Pós-graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

SILVA, C. P. A.; ALMEIDA, A. B. P. F.; GODOY, I.; ARAÚJO, A.C. P.; AGUIAR, D. M.; SOUSA, V. R. F.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V. Detecção molecular de *Brucella canis* em cães do Município de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.42, n.6, 2012, p. 1051-1056.

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 Minas Gerais. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 24, n.3, p. 127-131, 2002.

SUZUKI, E. Y.; PENHA, G. A.; UEDA, F. S.; SALVARANI, R. S. Brucelose canina: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano 6, n.10, 2008, p. 1-4. Disponível em: <<http://www.revista.inf.br/veterinaria10/revisao/edic-vi-n10-RL11.pdf>>. Acesso em: 23 de junho de 2012.

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-Brucella canis E ANTI-Brucella abortus EM CÃES (Canis familiaris) DA REGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM E ILHA DE MARAJÓ, ESTADO DO PARÁ\***

SURVEY ANTIBODIES ANTI-Brucella canis AND ANTI-Brucella abortus IN DOGS (Canis familiaris) THE METROPOLITAN AREA OF BELÉM AND MARAJÓ ISLAND, STATE OF PARÁ.

Eliane de Nazaré Lima de Andrade, Andre Marcelo Conceição Meneses, Alexandre do Rosário Casseb, Andrea Maria Góes Negrão, Sandro Patroca, Renata Kelly Gonzaga Bastos e Nazaré Fonseca de Souza

**ABSTRACT.** Andrade E. de N. L. de, Meneses A. M. C., Casseb A. do R., Negrão A. M. G, Bastos R. K. G. & Souza N. F. de [**Survey antibodies anti-Brucella canis and anti-Brucella abortus in dogs (Canis familiaris) the metropolitan area of Belém and Marajó Island, State of Pará**]. Pesquisa de anticorpos anti-Brucella canis e anti-Brucella abortus em cães (Canis familiaris) da região metropolitana de Belém e Ilha de Marajó, Estado do Pará. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, 00(0):00-00, 2012. Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Av. Presidente Tancredo Neves, 2501, Bairro Montese, Belém, PA, CEP 66077-550, Brasil. E-mail: [liamedvet@yahoo.com.br](mailto:liamedvet@yahoo.com.br)

The dog brucellosis is characterized as a contagious infectious illness attacks various domestical animals species, sylvan and also men. The dog infection, in majority of the cases, is occasioned by Brucella canis, but, Brucella abortus can also be involved. This job has as aim identify the occurrence of anti-Brucella canis and anti-Brucella abortus antibodies on Belém metropolitan region and Marajó island, on Pará State. Were used 1,400 dog serum samples, being 637 male and 763 female, originated from the Metropolitan area of Belém and Marajó. The swab occurred from 2010 a 2012. The utilized methods were a fast soroagglutination with a plugged acidified antigen (AAT) and imunodiffusion on Agar gel (IDGA), obtaining 17.1% of soropositivity to AAT and 1.1% to IDGA. This job is emphasizes the importance of the survey brucellosis in dogs, thereby, to establish control of this zoonoses.

**KEY-WORDS.** Canids, serology, Amazon.

---

\* Recebido em.....

Aceito em

Médico Veterinário, Instituto de Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia, Av. Presidente Tancredo Neves, 2501, Bairro Montese, Belém, PA, CEP 66077-550, Brasil. Email: [liamedvet@yahoo.com.br](mailto:liamedvet@yahoo.com.br), [andre.meneses@ufra.edu.br](mailto:andre.meneses@ufra.edu.br), [alexcasieb@yahoo.com.br](mailto:alexcasieb@yahoo.com.br), [spatroca@yahoo.com.br](mailto:spatroca@yahoo.com.br), [renatabast@gmail.com](mailto:renatabast@gmail.com), [nazavet@bol.com.br](mailto:nazavet@bol.com.br)

**RESUMO.** A brucelose canina caracteriza-se por ser uma doença infecto-contagiosa crônica que acomete várias espécies de animais domésticos, silvestres e também o homem. A infecção de cães, na maioria dos casos, é ocasionada pela *Brucella canis*, no entanto a *Brucella abortus* pode estar envolvida. Este trabalho teve como objetivo identificar a ocorrência de anticorpos anti-*Brucella canis* e anti-*Brucella abortus* em cães da região metropolitana de Belém e Ilha de Marajó, estado do Pará. Foram utilizadas 1.400 amostras de soros de cães, sendo 637 machos e 763 fêmeas, provenientes da Região Metropolitana de Belém e Ilha de Marajó, no período de 2010 a 2012. As amostras foram avaliadas para anticorpos anti-*Brucella canis* através da prova de Imunodifusão em gel de ágar (IDGA) e para anticorpos anti-*Brucella abortus* através do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT). Obtendo-se 17,1% de soropositividade ao AAT e 1,1% ao IDGA. Este trabalho ressalta a importância da pesquisa de brucelose na espécie canina, para assim, se estabelecer um controle desta zoonose.

**PALAVRAS-CHAVE.** Canídeos, sorologia, Amazônia.

## INTRODUÇÃO

A brucelose canina é uma doença infecto-contagiosa, de caráter zoonótico, caracterizada, principalmente, por abortamentos e esterilidade nas fêmeas e orquite e epididimite nos machos (Carmichael & Greene, 1998), os quais contribuem em perdas econômicas para canis comerciais, além de ser uma importante zoonose (Lage et al., 2005).

A infecção em cães, na grande maioria dos casos, é ocasionada pela *Brucella canis*, no entanto, a *Brucella abortus* pode estar envolvida (Miranda et al., 2005). A infecção por *B. abortus* é de ocorrência esporádica e, geralmente, resulta do contato de cães da zona rural com produtos de origem animal contaminado ou da ingestão de restos placentários e de fetos abortados (Carmichael & Greene, 1998).

O diagnóstico clínico da infecção é difícil devido à ausência de sinais específicos e a maioria dos cães serem assintomáticos (Cavalcanti et al., 2006). De acordo com Porto et al. (2008), os testes sorológicos são os métodos, frequentemente, utilizados no diagnóstico da doença. O tratamento é longo e cura bacteriológica incerta. Esta patologia é importante em termos de saúde pública, pois o animal infectado torna-se um risco para a saúde humana (Keid, 2000). Dorneles et al. (2011) consideraram o caráter zoonótico da brucelose canina, sua interferência na vida reprodutiva do animal e a grande inserção dos cães na sociedade como possíveis fatores de risco associados a essa enfermidade.

A brucelose é transmitida por contato direto e indireto com animais infectados, através de tecidos fetais abortados, descargas vaginais do parto ou do abortamento, assim como urina (Salgado, 2006; Oliveira et al., 2010). A identificação dos cães doentes é

importante, pois é uma fonte de infecção e esses podem eliminar o agente no ambiente, favorecendo a transmissão aos próprios cães, assim como para outras espécies (Megid et al., 2007). Em, 2010, dois casos humanos foram relatados no Japão (Kao et al., 2010) e, em 2011, relataram um caso positivo para *B. canis* em paciente com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida no Arizona (Lawaczeck et al., 2011).

Diante da escassez de informações sobre a infecção por *B. canis* e *B. abortus* em cães no estado do Pará e levando-se em consideração a importância desse agente como causador de doença, o presente trabalho teve por objetivo verificar a ocorrência de anticorpos anti-*Brucella abortus* e anti-*Brucella canis* em cães da Região Metropolitana de Belém e Ilha de Marajó.

## MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada na Ilha de Marajó e na Região Metropolitana de Belém (RMB), que é composta pelos Municípios de Ananindeua, Belém, Benevides, Marituba, Santa Bárbara e Santa Izabel (Lei Complementar Federal de 1995).

Foram utilizados 1.400 cães provenientes da RMB e Ilha de Marajó, sendo 637 machos e 763 fêmeas, com raças variadas, na faixa etária de 1 a 17 anos e sem sintomas clínicos da enfermidade. Antes da colheita, cada animal foi cadastrado em formulário próprio, contendo nome e endereço do proprietário, nome, idade do animal, sexo, raça e histórico de vida reprodutiva e o material só foi coletado mediante assinatura do proprietário de termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

As amostras de sangue foram obtidas a partir da venopunção cefálica ou jugular externa, totalizando 5 ml. Após a coleta, foram obtidas alíquotas de soros, que foram armazenadas à -20 °C até o momento da realização dos testes sorológicos.

Para o diagnóstico sorológico da brucelose canina, utilizaram-se testes sorológicos através de kits reagentes produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). Os soros foram testados através da prova de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) para anticorpos anti-*Brucella canis* e através do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) para anti-*Brucella abortus* (Alton et al., 1988), obedecendo às recomendações e as normas técnicas preconizadas pelo fabricante (TECPAR).

O teste de IDGA, inicia-se com a preparação do Tampão Borato, que ajusta seu pH em 8,3 por meio da adição de solução de Hidróxido de Sódio 0,2 M. Seguindo-se à preparação do gel, com a adição de 1,0 ml de Azida sódica a 1%. Após completa dissolução pelo calor, foram distribuídos 16 ml do gel em placas de Petri (plástico) medindo 90 x 15 mm de diâmetro, sem ranhuras no fundo, permanecendo em temperatura ambiente até sua solidificação e armazenagem a 2-8 °C por, no mínimo, 30 minutos e, no máximo, 24 horas.

No momento do uso, o gel foi perfurado com moldes de 4 mm de diâmetro e 3 mm de distância entre as bordas, sendo um furo central e os outros 6 distribuídos em torno deste, formando assim 12 rosetas com 7 poços com capacidade de 25 µl de material cada poço. Após a retirada do ágar, com o auxílio de agulha de bomba de sucção, os poços foram preenchidos com soros positivos, soros a testar e antígeno, como recomenda o fabricante. Os reagentes positivos (soro padrão) foram depositados nos orifícios superiores e inferiores ao orifício central, onde foi depositado o antígeno e os soros a testar foram depositados nos 3 orifícios laterais do molde. Essas placas foram mantidas em câmara úmida, em temperatura ambiente.

As leituras foram realizadas com 24, 48 e 72 horas, utilizando sistema de iluminação com luz indireta e fundo preto, sendo o resultado final obtido na leitura de 72 horas.

Para a interpretação desse teste, observou-se nas amostras reagentes a formação de uma linha de precipitação entre o soro teste e o antígeno, sendo consideradas não reagentes as amostras que não formaram a linha de precipitação ou a linha formada não teve identidade com a do soro padrão (linha inespecífica). As amostras cuja linha de precipitação apresentou uma inclinação muito próxima do orifício do soro a testar foram consideradas fraco reagente. Para fins estatísticos, os soros fraco reagentes na prova IDGA foram considerados reagentes.

O teste de AAT consiste na reação de 30 µl de soro a testar com 30 µl do antígeno em uma placa de vidro padronizada (quadriculada), que foi rotacionada cuidadosamente durante 4 minutos consecutivos. Em seguida, realizou-se a leitura final, onde foi observada a presença ou a ausência de grumos, caracterizando amostra soro reagente ou soro não reagente, respectivamente.

A análise estatística foi realizada através do estudo da associação entre a soropositividade e as variáveis analisadas (faixa etária, raça, sexo, procedência do animal e

local de coleta), através do programa BioEstat 5.0<sup>®</sup>, utilizando estatística inferencial por meio dos testes Exato de Fisher, de Qui-quadrado e G, quando necessário (Zar, 1999). O nível de significância adotado foi de 0,05.

## RESULTADOS

Das 1.400 soros analisados, 239/1400 (17,1%) foram considerados reagentes ao teste de AAT e 16/1400 (1,1%) ao teste de IDGA. Nas amostras positivas para AAT, 225 (94,14%) foram oriundas da RMB e 14 (5,86%) da Ilha de Marajó, porém no teste de IDGA, todas as amostras positivas foram oriundas da RMB, o que implica dizer que nesta pesquisa, não houve ocorrência de *B. canis* na ilha de Marajó (Figura 1).

Os resultados das amostras reagentes ao teste de AAT associados às variáveis sexo, procedência, faixa etária, raça e local (Tabela 1) foram considerados estatisticamente significativos, com  $p < 0,05$ . No entanto, não houveram diferenças significativas entre as variáveis supracitadas e os resultados ao teste de IDGA (Tabela 2).

## DISCUSSÃO

A ocorrência de anticorpos anti-*Brucella canis*, nos cães deste estudo através da técnica de IDGA, foi de 1,1%, valor esse muito inferior aos encontrados por Vargas et al. (1996) em Uruguaiana (RS), Megid et al. (1999) em Botucatu (SP), Nárez et al. (1999) na Cidade do México, Carvalho et al. (2000) no estado do Pará e Dorneles et al. (2011) em Araguaína (TO), com valores de 72,7%, 57,1%, 45%, 45,34% e 44,53%, respectivamente. Silva et al., (2012) na cidade de Cuiabá (MT), também encontraram uma ocorrência superior à desta pesquisa, 24,1%, porém através da técnica da PCR.

Ocorrências semelhantes, utilizando a técnica do IDGA, foram descritos por Almeida et al. (2001) em Alfenas (MG) que encontrou 4,9% e Aguiar et al. (2005) em Monte Negro-RO com 3,6%, entretanto, essas amostras foram negativas quando testadas com 2-Mercaptoetanol e Malek dos Reis et al. (2008) em São João da Boa Vista (SP) com 0,8% de positividade.

Essa diferença de resultado citada por diferentes autores pode ser devido a diversos fatores como a subjetividade da leitura do IDGA, a procedência dos animais testados (canis comerciais, animais domiciliados, semidomiciliados, animais errantes), reação cruzada e delineamento amostral. Entretanto, mesmo que a ocorrência na RMB tenha sido baixa, esse fato merece atenção, pois um animal soro reagente pode ser uma possível fonte de infecção a outros cães e a outras espécies, servindo de reservatório de Brucella. Com isso, medidas preventivas podem ser aplicadas para garantir não disseminação da doença no estado do Pará, e quem sabe erradicá-la.

De acordo com a literatura, a ocorrência de anticorpos anti-B. abortus em cães da zona urbana é baixo, assim como citado por Almeida et al. (2004), porém o presente estudo apresentou 17,1% de animais reagentes na prova de AAT, sendo superior aos resultados obtidos por Lopes et al. (1999), no estado do Pará, Moraes et al. (2000) e Azevedo et al. (2003), em São Paulo, que detectaram prevalência 4,30%, 0,84% e 2,20% respectivamente. Porém, Porto et al. (2008) na cidade de Maceió (AL), Almeida et al. (2010) em Minas Gerais e Dorneles et al., (2011) na cidade de Araguaína (TO), não encontraram animais reagentes em seus estudos, utilizando os testes de AAT, AAT e 2-ME e FPA (Ensaio com Fluorescência Polarizada).

Através da variável sexo, este estudo verificou que das 239 amostras reagentes à prova do AAT, 91 eram machos e 148 fêmeas. Nessa variável houve diferença estatística significativa, onde  $p = 0,0139$ , ou seja, houve predisposição de sexo, estando às fêmeas assim mais expostas ao risco da infecção a B. abortus, nesta região. Este resultado divergiu dos observados por Germano et al. (1987), Moraes et al. (2002) e Almeida et al. (2004), que citam não haver predisposição em relação ao sexo, já que em seus estudos esses autores não observaram diferença significativa em machos e fêmeas.

Moraes et al. (2002) observaram uma maior frequência de animais positivos situados na faixa etária de 1 ano e meio a 4, semelhante com o presente trabalho, que apresentou maior soropositividade em animais de 1 a 3 anos, havendo diferença significativa ( $p = 0,030$ ) para os animais nessa faixa etária, pois nesse período de vida, de acordo com revisão realizada por Azevedo et al.(2003), os cães atingem a maturidade sexual e conseqüentemente, início da cobertura, além da maior possibilidade de contato com outros animais infectados. No entanto, esses resultados divergem dos de Porto et al. (2008), em Maceió (Al), que não observaram associação significativa entre infecção e faixa etária dos animais estudados.

Observou-se que os cães reagentes a anti-B. abortus mostraram significância estatística quando associados a variável raça ( $p = 0,004$ ), sendo que os cães SPRD foram os que apresentaram maior ocorrência, com 161 animais reagentes, assim como cita Souza et al. (2002), que a predisposição racial para a brucelose é maior em cães SPRD e quando estuda-se os CPRD, tem-se que as raças dos Pastores e Poodles como as mais predispostas. Hollet (2006) acrescenta, ainda, a predisposição de raças como Beagles, Labradores, cockers Spaniels e Baston Terrier.

Em relação à procedência das amostras, mesmo não havendo significância estatística dessa variável em relação aos animais reagentes, a ocorrência de 94,14% na Região Metropolitana Belém (RMB) merece atenção, uma vez que essa se trata de uma área urbana e a infecção de cães por B. abortus está mais relacionada a animais provenientes de ambiente rural (Almeida et al., 2004), onde transmissão dessa infecção está associada ao consumo de alimentos de origem animal in natura, contato ou ingestão de restos de abortamento (Azevedo et al., 2003). Contrapondo a esses resultados, Zanetii et al. (2011), na cidade Porto Camargo-PR, relataram que através da prova de 2-ME, encontraram apenas um cão reagente a B. abortus proveniente de ambiente urbano.

O hábito da população ainda oferecer alimento in natura aos animais de estimação, o contato e convívio de animais de estimação com outras espécies, favorecendo a promiscuidade e o trânsito livre de animais, torna muitas vezes esses animais peri-urbanos, e assim estarem mais expostos a infecção por B. abortus.

Malek dos Reis et al. (2008) mencionaram que o manejo tipo solto, como um evento epidemiológico relevante para a ocorrência da brucelose, pois estes cães possuem contato livre entre os animais aumentando as chances de transmissão da infecção, disseminando a brucelose para a população canina, incluindo os animais de companhia, conseqüentemente, aumentando o risco para a saúde pública.

É importante ressaltar que os dados relativos à prevalência e ocorrência da brucelose canina no Brasil são variáveis e as comparações entre as pesquisas precisam de cautela, devido às diferenças no delineamento amostral e nos diferentes testes, assim como, na sua interpretação (Minharro et al., 2005; Miranda et al., 2005).

Assim como o proposto por Silva et al. (2012), medidas devem ser adotadas, através de ações locais que agilizem o controle e desenvolvam um monitoramento das regiões ou setores de maior ocorrência de brucelose, juntamente com a implantação de um

programa de controle dessa enfermidade, que viabilize e execute propostas de ação, vigilância e educação em saúde para a população.

## CONCLUSÕES

Neste estudo, os dois tipos de anticorpos estão presentes na população de cães. O anti-B. canis parece está presente apenas em uma pequena parcela da população de cães da RMB e ausente na Ilha do Marajó. Porém, o anti-B abortus parece está mais frequente que anti-B. canis na RMB e Ilha do Marajó, inclusive em relação a outras regiões do Brasil. Pode ser que essa variação seja em virtude de que 6 regiões tenham sido alvo do estudo na RMB e somente 3 na Ilha do Marajó, além da proximidade a grande centro urbano de Belém.

O perfil dos cães soropositivos para B abortus indica o maior predomínio de fêmeas contaminadas em relação a machos, com idade entre 1 a 3 anos, sem raça definida, provenientes, principalmente, do município de Belém. Esse perfil pode ser explicado pelo fato de fêmeas no pico de idade reprodutiva dessa forma estão mais expostas ao cruzamento com um considerável número de machos, com isso, possibilitando o maior contato com animais contaminados. Em contra partida, o perfil dos cães indica que não há prevalência entre os sexos, nem entre faixas etárias e raças, porém, podem ser mais encontrados em Belém. Talvez o fato da B. canis acometer, principalmente, cães e raramente humanos, e estar ausente em outras espécies de animais, possa justificar a ausência de especificidade em relação ao perfil levantado.

Sendo assim, o estudo sugere que medidas de controle e profilaxia devem ser implantadas na região, com enfoque nos cães perfil potencial para essa zoonose, pois esses animais podem servir de fonte de infecção, o que merecer atenção do ponto de vista de saúde pública.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

Aguiar D.M., Cavalcante G.T., Vasconcelos S.A., Megid J., Salgado V.R.; Cruz T.F., Labruna M. B., Pinter A., Silva J.C.R., Moraes Z.M., Camargo L.M.A & Gennari S.M. Ocorrência de anticorpos anti-Brucella abortus e anti-Brucella canis em cães

rurais e urbanos do Município de Monte Negro, Rondônia. *Ciência Rural*, 35:1216-1219, 2005.

Almeida A.C., Meneses A.M., Bernis V.M.O, Soares T.M.P., Loiola C.F., Marinovik C. & Ferreira P.A.S. Soroprevalência de brucelose canina na cidade de Alfenas, MG. Dados preliminares. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 53:358-360, 2001.

Almeida A.C., Santorelli A., Bruzadelli R.M.Z. & Oliveira M.M.N. Soroepidemiologia da brucelose canina causada por *Brucella canis* e *Brucella abortus* na cidade de Alfenas, MG. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 56:275-276, 2004.

Almeida A.C, Silva D.B., Augusto P.H., Silva B.C.M. & Pinho, L. Incidência de Brucelose Animal na Região Sul de Minas Gerais em Rebanho Positivo ao teste do anel de leite: Nova Técnica. *Ciência Animal Brasileira*, 11:966-97, 2010.

Alton G.G., Jones L.M., Angus R.D., Verger, J.M. *Techniques for the brucellosis laboratory*, 1988. 190p.

Azevedo S.S., Vasconcellos S.A., Alves C.J., Keid L.B., Grasso L.M.P.S, Mascoll 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*, 23:156-160, 2003.

Carmichael L.E. & Greene C.E. *Canine Brucellosis*, p. 248-257. In: Greene C.E. (Ed.) *Infectious diseases of the dog and cat*. 2 ed., Philadelphia: W. B. Saunders, 1998.

Carvalho M.R., Molnár L., Molnár E., Dias H. L. & Lima E.S.C. Ocorrência da *Brucella canis* e *Brucella abortus* em cães criados no Estado do Pará. *Revista de Ciência Agrária - Belém*, 34:60-76, 2000.

Cavalcante L.A., Dasso M.G., Oliveira F.C.S., Viegas S.A.R.A., Almeida M.G.A.R., Anunciação A.V.M., Alcantra A.C., Bitencourt D.V.V. & Oliveira E.M.D. Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella canis* em cães provenientes da região metropolitana de Salvador. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 7:176-180, 2006.

Dorneles E. M. S., Santos H., Minharro S., Nascimento-Rocha J.M., Mathias L.A., Dasso M.G., Tiensooli C.D., Heinneman B.M. & Lage A.P. Anticorpos anti *Brucella canis* e anti *Brucella abortus* em cães de Araguaína, Tocantins. *Braz. j. Vet. Res. Anim. Sci.* 48:167-171, 2011.

- 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*, 24:27-34, 1987.
- Hollet R.B. Canine Brucellosis: outbreaks and compliance. *Theriogenol.*, 66:575-585, 2006.
- 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*, 177:168-171, 1980.
- Kao T.M., Wu U.I. & Chen, Y.C. Human *Brucella canis* infections diagnosed by blood culture. *Emerging Infectious Diseases*, 16:1183-1185, 2010.
- Keid, L.B. Avaliação de métodos diretos e indiretos de brucelose em cães naturalmente infectados. 2006, 134p. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses – Curso de Pós-Graduação em Epidemiologia experimental e Aplicada às Zoonoses), Universidade de São Paulo. Disponível em: <<http://www.cipedya.com/doc/169084>> Acesso em: 11 maio. 2010.
- Lage A.P., Poester F.P., Gonçalves V.S.P., Roxo, E., Müller E.E., Cavallero J.C.M., Ferreira-Neto J.S., Motta P.M.P.C., Figueiredo V. C.F. & Lôbo J.R. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose. *Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia*, 47:99-110, 2005.
- Lawaczek E., Toperek J., Cwikla J. & Mathison B.A. Case Report- *Brucella canis* in a HIV-Infected Patient. *Zoonoses Public Health*, 58:150–152, 2011.
- Lopes C.F.A., Molnár L., Molnár E. Avaliação soropidemiológica da brucelose em animais e humanos procedentes da zona Bragantina no estado do Pará - Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 23:429-431, 1999.
- Malek dos Reis C.B., Hoffmann R.C., Santos R.S., Turri R.J.G. & Oriani M.R.G. Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella canis* e anti-*Brucella abortus* em cães errantes da cidade de São João da Boa Vista, Estado de São Paulo, Brasil (2002-2003). *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science*, 45:32-34, 2008.

- Megid J., Brito A.F., Moraes C.C.G., Fava N. & Agottani J. Epidemiological assessment of canine brucellosis. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 51:439-440, 1999.
- Megid J., Salgado V.R., Keid L.B., Siqueira A.K., Meirelles C.E., Moretti D.M. Infecção em cão por *Brucella abortus*: relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 59:1583-1585, 2007.
- Minharro S., Cotorello A.C.P., Miranda K.L., Stynen A.P.R., Alves T.M. & Lage A.P. Diagnóstico da brucelose canina: dificuldades e estratégias. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 29:167-173, 2005.
- Miranda K.L., Cottorello A.C.P., Poester F. & Lage A.P. Brucelose canina. *Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia*, 47:66-82, 2005.
- Moraes C.C.G. Prevalência de anticorpos anti-*Brucella canis* em cães da microrregião da serra de Botucatu, estado de São Paulo. Dissertação, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2000. 89p. (Disponível em:<[http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arg/V69\\_2/moraes.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arg/V69_2/moraes.pdf)>)
- 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*, 69:7-10, 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 Méxic*, 37:43-50, 1999.
- Oliveira M.Z.D., Oliveira D., Vale V., Keid L., Freire S.M., Meyer R., Portela R.W. & Melo S.M.B. Validation of an ELISA method for the serological diagnosis of canine brucellosis due to *Brucella canis*. *Research in Veterinary Science*, 90:425-431, 2010.
- Porto W.J.N., Pinheiro Junior J.W. & Mota R.A. Associação entre distúrbios reprodutivos e anticorpos anti-*Brucella sp.* em cães atendidos em clinicas particulares da cidade de Macéio-AL. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 15:6-9, 2008.
- Salgado, V. R. Avaliação das técnicas de cultivo microbiológico e soroaglutinação rápida em cartão com e sem 2-mercaptoetanol no diagnóstico da brucelose canina. Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2006. 146p. (Disponível em:<<http://www.dominiopublico.gov.br/download/texto/cp011584.pdf>>)

Silva C.P.A., Almeida A.B.P.F., Godoy I., Araújo A.C.P., Aguiar D.M., Sousa V.R.F., Nakazato L. & Dutra V. Detecção molecular de *Brucella canis* em cães do Município de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. *Ciência Rural*, 42:1051-1056, 2012.

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, Minas Gerais. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 24:127-131, 2002.

Vargas A.C., Lazzaria., Dutra V. Brucelose canina: relato de caso. *Ciência Rural*, 26:306-308, 1996.

Zanetti D.F., Pinto Neto A., Silva A.V. & Martins L.A. Detecção de anticorpos anti-*Brucella abortus* em cães da comunidade Porto Camargo – PR. *Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar*, 14:41-44, 2011.

Zar J.H. *Bioestatistical Analyses*. 4 ed. Upper Saddle River, Prentice -Hall, 1999. 663p.

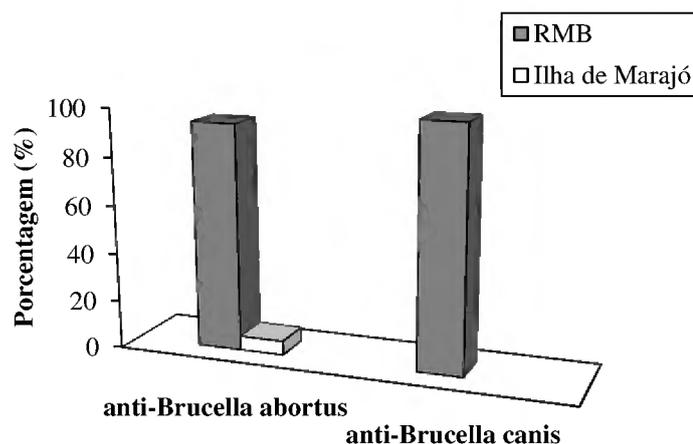


Figura 1. Ocorrência de anticorpos anti-Brucella canis e anti-Brucella abortus na Região Metropolitana de Belém (RMB) e Ilha de Marajó

Tabela 1. Caracterização do perfil dos cães acometidos com Brucella abortus (teste de AAT), considerando  $p \leq 0,05$

Variáveis		N	Reagente	%	P
Sexo	Machos	637	91	38,07	0,0139
	Fêmeas	763	148	61,93	
Procedência	Belém	1005	182	76,15	< 0,05
	Ananindeua	70	12	5,01	
	Benevides	56	12	5,01	
	Marajó	129	14	5,88	
	Marituba	54	4*	1,68	
	Santa Bárbara	66	12	5,01	
	Santa Izabel	20	3*	1,26	
Idade	1-3	1014	180	75,31	0,030
	4-6	253	41	17,15	
	7-9	79	6	2,51	
	10-12	45	9	3,77	
	13-17	9	3*	1,26	
Raça	SPRD	824	161	67,36	0,004
	CPRD	576	78	32,64	
Local de coleta	Ação Pet	199	27	11,30	0,0004
	Abrigos	56	9	3,77	
	Canil	107	17	7,11	
	CCZ	215	61	25,52	
	Clínicas	607	89	37,24	
	Hovet- VD	87	22	9,20	
	Marajó	129	14	5,86	

\* Foi utilizado teste de Fischer, pois os valores esperados foram menores que 5.

% Refere-se à porcentagem de positivos na categoria em relação ao total de positivos.

Tabela 2: Caracterização do perfil dos cães acometidos com *Brucella canis* (teste de IDGA), considerando  $p \leq 0,05$ 

Variáveis		N	Reagente	%	P
Sexo	Machos	637	9	56,25	P < 0,05
	Fêmeas	763	7	43,75	
Procedência	Belém	1005	14	87,50	P < 0,05
	Ananindeua	70	1*	6,25	
	Benevides	56	0	0	
	Marajó	129	0	0	
	Marituba	54	0	0	
	Santa Bárbara	66	1*	6,25	
	Santa Izabel	20	0	0	
Idade	1-3	1014	9	56,25	P < 0,05
	4-6	253	3*	18,75	
	7-9	79	3*	18,75	
	10-12	45	1*	6,25	
	13-17	9	0	0	
Raça	SPRD	824	9	56,25	P < 0,05
	CPRD	576	7	43,75	
Local de coleta	Ação Pet	199	3*	18,75	P < 0,05
	Abrigos	56	1*	6,25	
	Canil	107	0	0	
	CCZ	215	2*	12,5	
	Clínicas	607	10	62,50	
	Hovet- VD	87	0	0	
	Marajó	129	0	0	

\* Foi utilizado teste de Fischer, pois os valores esperados foram menores que 5.

% Refere-se à porcentagem de positivos na categoria em relação ao total de positivos.

## **Ocorrência de anticorpos anti-Brucella canis e anti-Brucella abortus em cães (Canis familiaris) da Ilha de Marajó, Estado do Pará**

Survey antibodies anti-Brucella canis and anti-Brucella abortus in Amazonics dogs (Canis familiaris) of Marajó Island, State of Pará

Eliane de Nazaré Lima de Andrade \*, André Marcelo Conceição Meneses, Alexandre do Rosário Casseb, Sandro Patroca, Renata Kelly Gonzaga Bastos, Natacha cintia Ferreira Fernandes, Nazaré Fonseca de Souza

### **RESUMO**

Esta pesquisa teve como objetivo verificar a ocorrência de anticorpos anti-Brucella abortus e anti-Brucella canis em cães na região amazônica da Ilha do Marajó, PA. Foram avaliadas 129 amostras de soro de cães que viviam em ambiente semiurbano abrangendo as três microrregiões da ilha (Arari, Breves e Portel). Os soros foram avaliados para anticorpos anti-Brucella canis através da prova de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) e para anticorpos anti-Brucella abortus através do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT). Não houve soropositividade a prova de IDGA, enquanto que na prova de AAT, os resultados encontrados indicaram uma soropositividade de 14 (5,85%) animais reagentes, onde 01 (7,14%) apresentou reação á AAT na microrregião do Ararí, 08 animais em Breves (57,14%) e 05 em Portel (35,72%), comprovando a presença de anticorpos anti-Brucella abortus nessa região. Os resultados estatísticos indicaram que a reação ocorreu em animais sem diferença de sexo, idade e padrão de raça definida, havendo associação estatística entre a soropositividade para anticorpos anti-Brucella abortus e a microrregião de procedência do animal, o que deve despertar interesse do ponto de vista de saúde pública, por se tratar de uma zoonose.

**Palavras-chave:** Canídeos, sorologia, Amazônia

### **ABSTRACT**

This research aimed to verify the occurrence of anti-Brucella abortus and anti-Brucella canis in dogs in the Amazon region of Marajó Island, PA. Were evaluated 129 serum samples from dogs living in an semi urban environment covering the three micro regions of the island (Arari, Breves and Portel). The serums were avaliaded for Brucella canis antibodies by proving agar gel imuno-difusion (IDGA) and to Brucella abortus antibodies through the plugged acidified antigen (AAT). Found results indicated a serum positivity of 14 (5.85%) reagent animals to AAT, where 01 (7.14%) presented reaction to AAT in Ararí region, 08 animals from Breves (57.14%) and 05 from Portel region (35.72%), confirming presence of antibodies anti-Brucella abortus on these regions. Statistician results indicated that the reaction occurred on animals without sex, age and race pattern difference, having statistician association between the anti-Brucella abortus serum positivity and the animal micro-region provenance. Serum positive animals can be represented dog brucellosis

---

\* Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Av. Presidente Tancredo Neves, 2501, Montes, CEP 66077-550, Belém, PA, Brasil. Email: [liamedvet@yahoo.com.br](mailto:liamedvet@yahoo.com.br).  
Autor para correspondência.

source caused by *Brucella abortus*, what can awaken interest by public health viewpoint, for take care about a zoonose.

**Key-words:** Canids, serology, Amazon

## INTRODUÇÃO

A brucelose é uma zoonose de evolução crônica, que acomete varias espécies de animais em todo o mundo, é causada pelas bactérias do gênero *Brucella*. Ela compromete, especialmente, os sistemas reprodutivo e locomotor dos animais, ocasionando o abortamento no terço final da gestação (ALMEIDA et al., 2007) e risco à saúde humana (FAVERO et al., 2008).

A infecção em cães na maioria dos casos é ocasionada pela *Brucella canis*, (MIRANDA et al., 2005), no entanto, são passíveis de adquirir a infecção por *Brucella abortus*, que em geral, ocorre pela exposição à produtos de origem animal contaminados ou ingestão de restos placentários e de fetos abortados (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

A prevenção da brucelose em seres humanos depende até o momento do controle realizado na espécie animal, uma vez que não existe vacinação para o controle dessa enfermidade no homem (ALMEIDA et al., 2007).

A Ilha do Marajó apresenta clima equatorial úmido, onde nota-se apenas duas estações no ano, inverno ou época das chuvas e verão ou época da seca. Na época das cheias, a água é mantida represada no campo, propiciando a proliferação de agentes infecciosos, parasitários e virais (BRASIL, 2007), além dos diversos cursos d'água e área de mata ciliar presentes na Ilha. De acordo Mafra (2002), a *Brucella* desenvolve-se com facilidade em ambientes frios e úmidos e na presença de matéria orgânica, o que permite sua resistência e permanência no solo.

O objetivo desta pesquisa foi verificar a ocorrência de anticorpos anti-*Brucella canis* e anti-*Brucella abortus* em cães da Ilha de Marajó, Estado do Pará. Justifica-se este estudo pela carência de dados epidemiológicos referentes à brucelose canina na Região Amazônica, assim como, pela importância do seu caráter zoonótico, levando-se em consideração o papel dos cães como transmissores e possíveis portadores dessa enfermidade.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Área de Estudo**

A pesquisa foi realizada na Ilha do Marajó, abrangendo as suas três microrregiões - Arari, Portel e Breves. A ilha localiza-se entre os paralelos 0° e 2° de latitude Sul e os meridianos 48°20' e 51' de longitude Oeste de Greenwich, sendo limitado ao norte pelo canal Norte, ao sul pelo rio Pará, a leste pelo oceano Atlântico e baía do Marajó e a oeste pela bifurcação do rio Amazonas e canal do Norte e rio Pará (BRASIL, 2007).

### **Amostras**

Neste estudo, utilizou-se 129 cães da Ilha de Marajó, sendo 46 animais provenientes da microrregião de Breves, 41 de Portel e 42 de Arari. Esses animais não apresentavam sintomas clínicos da enfermidade, sem padrão de raça definida (SPRD), com idade variando de 1 a 17 anos e de ambos os sexos, sendo 78 machos e 55 fêmeas.

No momento da colheita, cada animal foi cadastrado em formulário próprio, contendo nome e endereço do proprietário, nome, idade do animal, sexo, raça e histórico de vida reprodutiva.

As amostras de sangue foram obtidas a partir da venopunção cefálica ou jugular externa, totalizando 5 ml. Após a coleta, foram obtidas alíquotas de soros, que foram armazenadas à -20 °C até o momento da realização dos testes sorológicos.

### **Testes Sorológicos**

Para o diagnóstico sorológico da brucelose canina, utilizaram-se kits produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). Os soros foram testados através da prova de Imunodifusão em gel de ágar (IDGA) para anticorpos anti-Brucella canis e através do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) para anti-Brucella abortus (ALTON et al. 1988), obedecendo às recomendações e normas técnicas preconizadas pelo fabricante (TECPAR).

O teste de AAT consiste na reação de 30 µl de soro a testar frente a 30 µl do antígeno em uma placa de vidro padronizada (quadriculada), que foi rotacionada cuidadosamente durante 4 minutos consecutivos. Em seguida, realizou-se a leitura final, onde foi observada a presença ou a ausência de grumos, caracterizando amostra soro reagente ou soro não reagente, respectivamente.

O teste de IDGA utilizou antígeno de *Brucella ovis*, constituído por parede celular bacteriana. As leituras foram realizadas com 24, 48 e 72 horas, através de um sistema de iluminação com luz indireta e fundo preto. O resultado final foi obtido na leitura de 72 horas.

Para a interpretação desse teste, observou-se nas amostras reagentes a formação de uma linha de precipitação entre o soro teste e o antígeno, sendo consideradas não reagentes as amostras que não formaram a linha de precipitação ou a linha formada não teve identidade com a do soro padrão (linha inespecífica). As amostras cuja linha de precipitação apresentou uma inclinação muito próxima do orifício do soro a testar foram consideradas fraco reagente. Para fins estatísticos, os soros fraco reagentes na prova IDGA foram considerados reagentes.

### **Análise Estatística**

Análise estatística foi realizada através do estudo da associação entre a soropositividade e as variáveis analisadas (faixa etária, raça, sexo e procedência do animal), através do programa BioEstat 5.0<sup>®</sup>, utilizando estatística inferencial por meio dos testes Exato de Fisher, de Qui-quadrado e G (ZAR, 1999), quando necessário. O nível de significância adotado foi de 0,05.

### **RESULTADOS**

Das 129 amostras de soro de cães, 14/129 (10,9%) foram consideradas soro reagentes a prova sorológica de AAT, sendo 9 (64,29%) machos e 5 (35,71%) fêmeas. Na prova sorológica ao IDGA não foram encontradas animais soro reagentes.

Os resultados das amostras reagentes associados às variáveis sexo, procedência, faixa etária e raça, são apresentados na tabela 1.

## DISCUSSÃO

A ocorrência de brucelose canina por *B. abortus* neste estudo foi superior as encontradas por Lopes et al. (1999) no Estado do Pará (PA) e Moraes (2000) e Azevedo et al., (2003) no estado de São Paulo (SP), com prevalências de 4,30%, 0,84% e 2,20% respectivamente. Isto pode ser explicado pelo fato desses animais serem semiurbanos, e com isso terem contato com outros animais, principalmente bovinos e bubalinos, que podem servir de fontes de infecção. Uma vez que a contaminação se dá pelo contato com seus produtos como fetos abortados, placentas de animais infectados, fezes, urina, ejaculados ou leite cru. Assim como, mostra Carvalho et al. (2000), que estudando a ocorrência de *B. canis* e *B. abortus* em cães no Estado do Pará através da técnica de ELISA, observaram uma prevalência elevada de 10% para *B. abortus* em cães de fazendas de bovinocultura.

Aguiar et al. (2005), em avaliação de cães de zona rural provenientes de propriedades do norte do Brasil que criavam bovinos e utilizando as mesmas técnicas deste trabalho, encontraram uma prevalência de 0,3%. Baixos índices de soropositivos para *B. abortus* são descritos, na literatura, em cães de zona urbana, como citado por Almeida et al. (2004). Entretanto, sabe-se que a *B. abortus* poderá infectar cães que convivem com bovinos infectados e criados em sistemas de manejo inadequados (ACHA; SZYFRES, 2001).

Gonçalves et al. (2008), na cidade de Jataizinho-PR, encontram 14,38% (11/80) de cães reagentes a *B. abortus*, dados superiores ao encontrado neste estudo. Porém, Maia et al. (1999) no Rio de Janeiro (RJ) e Almeida et al. (2001) em Alfenas (MG), Porto et al. (2008) na cidade de Maceió (AL), Dorneles et al. (2011), na cidade de Araguaína (TO) não encontraram nenhuma amostra positiva para *B. abortus* em suas pesquisas com brucelose canina. Essas divergências encontradas podem ser justificadas por vários fatores, dentre eles os ambientais, diferenças de amostragem e a população canina estudada, além da metodologia conduzida pelos testes sorológicos.

Dentre as primeiras descrições de cães infectados por *Brucella*, os da raça Beagle foram considerados os mais susceptíveis (MOORE, 1969 apud AZEVEDO et al., 2003), entretanto, Porto et al. (2008), na cidade de Maceió (AL), encontraram maior positividade em cães SPRD. Nesta pesquisa não foi possível fazer esta associação já que todos os animais estudados eram SPRD.

A variável sexo não apresentou diferença significativa à infecção por *B. abortus*, estando expostos tanto machos (64,29%) quanto fêmeas (35,71%), corroborando com os resultados obtidos por Almeida et al. (2004), que citam não haver predisposição quanto ao sexo, já que não observaram diferença significativa nos seus estudos, sendo 50% machos, 48,6% fêmeas e 1,4% não declararam o sexo.

De acordo com a literatura, a maior frequência de cães reagentes é com a idade acima de 1 ano ou em idade reprodutiva (ALMEIDA et al. 2001; MARASSI et al., 2003). Esta pesquisa encontrou maior soropositividade em animais na faixa etária de um a quatro anos, porém estatisticamente não foram observadas associação significativa entre a soropositividade e a faixa etária dos animais estudados, assim como o descrito por Moraes et al., (2002) em Botucatu (SP) e Porto et al., (2008) em Maceió (AL), que observaram a maior frequência de animais positivos situados na faixa etária de um ano e meio a 4 anos, o que se justifica pela maturidade sexual e consequente cobertura, bem como pela maior possibilidade de contato com animais infectados em função da idade (CARMICHAEL; GREENE, 1993).

Ao analisar a procedência dos animais, todas as microrregiões apresentaram animais reagentes, porém, em Breves foi observada significância estatística ( $p = 0,031$ ), como esses animais eram semiurbanos, supõem-se que nessa microrregião, os animais mantinham maior contato com outras espécies de animais, principalmente possíveis bubalinos e bovinos infectados, assim como maior acesso a produtos de origem animal contaminados com o *B. abortus*.

Na Ilha de Marajó, assim como em todo o estado do Pará, é bastante propício à ocorrência de brucelose, entretanto, a escassez de dados relativos à espécie canina, assim como, em relação a outras espécies que também estão envolvidas na transmissão do agente pode ser considerada como um empecilho na erradicação dessa zoonose. Por isso, de acordo com Azevedo et al. (2011), o controle e erradicação da brucelose deve ser encarado como um processo que atinge resultados em longo prazo, e compreende medidas que são aplicadas de acordo com a ocorrência e distribuição da infecção.

Segundo Silva et al. (2012), medidas devem ser adotadas, através de ações locais que agilizem o controle e desenvolvam um monitoramento das regiões ou setores de maior ocorrência, juntamente com a implantação de programas de controle da brucelose canina que viabilize e execute proposta de ação, vigilância e educação em saúde para a população.

## **CONCLUSÕES**

Esse estudo reporta a soro reação em cães da Ilha de Marajó à anticorpos anti-B. abortus, embora o anti-B. canis também tenha sido pesquisada nas mesmas amostras. A prevalência de cães com B. abortus foi superior que outras regiões no Brasil. Devido ao fato dessa população estar em contato com animais de produção, pois esses animais são considerados semi-urbanos, além de ainda incluir alimentos in natura na sua dieta, produtos de origem animal contaminado, assim como, a criação de varias espécies comungando um mesmo espaço.

Esta pesquisa reporta que a bactéria B. abortus pode acometer mais machos do que fêmeas, na faixa etária entre 1 e 4 anos, sem raça definida provenientes, principalmente, da micro região de Breves. O que pode ser explicado pelo fato dessa área está inserida na região amazônica e a umidade ser considerada como uma das características marcantes dessa região, uma vez que, essa bactéria se desenvolve com facilidade em ambientes frios e úmidos. Essa ocorrência serve como alerta e ressalta a importância da inclusão da espécie canina no controle e erradicação da brucelose na região.

## **AGRADECIMENTOS**

A Sociedade Bíblica do Brasil, pela ajuda e apoio na coleta de material, ao Laboratório de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Instituto de Saúde e Produção Animal – ISPA/UFRA, pelo apoio no processamento das amostras e a CAPES, pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3. ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2001.

AGUIAR, D. M. et al. Ocorrência de anticorpos anti-Brucella abortus e anti-Brucella canis em cães rurais e urbanos do Município de Monte Negro, Rondônia, Brasil. **Ciência Rural**, v. 35, p. 1216-1219, 2005.

ALMEIDA, A. C. et al. Soroepidemiologia da brucelose canina causada por Brucella canis e Brucella abortus na cidade de Alfenas, MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 275-276, 2004.

ALMEIDA, A. C. et al. Soroprevalência de brucelose canina na cidade de Alfenas, MG. Dados preliminares. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, p. 358-360, 2001.

ALMEIDA, M. R. et al. **Biocologia e Saúde Animal**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2007. 288 p.

ALTON, G. G. et al. **Techniques for the brucellosis laboratory**. 1988. 190 p.

AZEVEDO, S. S. et al. Associação entre brucelose e ocorrência de abortamentos em bovinos do estado do Espírito Santo – Nota Prévia. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, p. 215-219, 2011.

AZEVEDO, S. S. et al. 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, p. 156-160, 2003.

BRASIL. Governo Federal. **Plano de Desenvolvimento Territorial Sustentável para o Arquipélago do Marajó: resumo executivo da versão preliminar para discussão nas consultas públicas / Governo Federal, Grupo Executivo Interministerial**. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007.

CARMICHAEL, L. E.; GREENE, C. E. Brucelosis canina. In: GREENE, C. E. **Enfermedades infecciosas perros y gatos**. México: Interamericana Mc Graw Hill. 1993. p. 604-16.

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.

CARVALHO, M. R. et al. Ocorrência da *Brucella canis* e *Brucella abortus* em cães criados no estado do Pará. **Revista Ciência Agrária**, n. 34, p. 69-76, 2000.

DORNELES, E. M. S. et al. Anticorpos anti-*Brucella canis* e anti-*Brucella abortus* em cães de Araguaína, Tocantins. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, p. 167-171, 2011.

FAVERO, V. V. et al. Brucelose bovina. In: XI SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS APLICADAS DA FAEF, 2008, Garça, SP. **Anais do Simpósio de Ciências Aplicadas da FAEF**. Garça: Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal de Garça (FAEF), 2008. p. 131-134.

GONÇALVES, D. D. et al. Brucelose em cães de pequenas propriedades rurais do município de Jataizinho, PR. 35º CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Gramado, RS. **Anais do Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**. Gramado: CONBRAVET, 2008. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0215-1.pdf>. Acesso em: março/2012.

LOPES, C. F. A. et al. Avaliação soropidemiológica 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.

MAFRA, P. Impacto da Brucelose no Ambiente e Saúde Pública. **Estratégias de Controle em Zonas Endêmicas**. 2002.

MAIA, G. R. et al. 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. et al. Soroprevalência de brucelose canina no município do Rio de Janeiro pelo método de imunodifusão em gel de Agarose. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 10, p. 63-64, 2003.

MIRANDA, K. L. et al. Brucelose canina. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, n. 47, p. 66-82, 2005.

MORAES, C. C. G. et al. 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.

MORAES, C. C. G. **Prevalência de anticorpos anti-Brucella canis em cães da microrregião da serra de Botucatu, estado de São Paulo**. 2000. 89p. Dissertação (Mestrado em vigilância sanitária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

PORTO, J. N. W. et al. Associação entre distúrbios reprodutivos e anticorpos anti-Brucella SP em cães atendidos em clínicas particulares da cidade de Maceió-AL. **Revista Brasileira Ciência Veterinária**, v. 15, p. 6-9, 2008.

SILVA, C. P. A. et al. Detecção molecular de Brucella canis em cães do Município de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Ciência Rural**, v. 42, p. 1051-1056, 2012.

ZAR, J. H. **Bioestatistical Analyses**. 4 ed. Upper Saddle River: Prentice -Hall, 1999. 663 p.

Tabela 1: Caracterização das variáveis estudadas em relação as amostras reagentes à *Brucella abortus* (teste de AAT), considerando  $p \leq 0,05$ 

Variáveis		N	Reagente	%	P
Sexo	Machos	78	9	64,29	0,78
	Fêmeas	55	5*	35,71	
Procedência	Arari	42	1*	7,14	0,10
	Breves	46	8	57,14	0,03
	Portel	41	5*	35,72	0,70
Idade	1-4	85	9	64,28	0,72
	5-8	31	2*	14,29	0,12
	9-12	12	3*	21,43	1,0000
	13-17	1	0		1,0000
Raça	SPRD	129	14	10,9	-

\* Foi utilizado teste de Fischer, pois os valores esperados foram menores que 5.

% Refere-se à porcentagem de positivos na categoria em relação ao total de positivos.

## CONCLUSÕES GERAIS

Os dois tipos de anticorpos investigados estão presentes na população de cães da área de estudo. O anti-B. canis parece está presente apenas em uma pequena parcela da população de cães da RMB e ausente na Ilha do Marajó. Porém, o anti-B abortus parece está mais frequente que anti-B. canis na RMB e Ilha do Marajó, inclusive em relação a outras regiões do Brasil. Pode ser que essa variação seja em virtude de que 6 regiões tenham sido alvo do estudo na RMB e somente 3 na Ilha do Marajó, além da proximidade a grande centro urbano de Belém.

Esse estudo também reporta a soro reação em cães da Ilha de Marajó à anticorpos anti-B. abortus, embora o anti-B. canis também tenha sido pesquisada nas mesmas amostras. A prevalência de cães com B. abortus foi superior que outras regiões no Brasil. Devido ao fato dessa população estar em contato com animais de produção, pois esses animais são considerados semi-urbanos, além de ainda incluir alimentos in natura na sua dieta, produtos de origem animal contaminado, assim como, a criação de varias espécies comungando um mesmo espaço.

O perfil dos cães soropositivos para B abortus indica o maior predomínio de fêmeas contaminadas em relação a machos, com idade entre 1 a 3 anos, sem raça definida, provenientes, principalmente, do município de Belém. Esse perfil pode ser explicado pelo fato de fêmeas no pico de idade reprodutiva dessa forma estão mais expostas ao cruzamento com um considerável número de machos, com isso, possibilitando o maior contato com animais contaminados. Em contra partida, o perfil dos cães indica que não há prevalência entre os sexos, nem entre faixas etárias e raças, porém, podem ser mais encontrados em Belém. Talvez o fato da B. canis acometer, principalmente, cães e raramente humanos, e estar ausente em outras espécies de animais, possa justificar a ausência de especificidade em relação ao perfil levantado.

A bactéria B. abortus pode acometer mais machos do que fêmeas, na faixa etária entre 1 e 4 anos, sem raça definida provenientes, principalmente, da micro região de Breves. O que pode ser explicado pelo fato dessa área está inserida na região amazônica e a umidade ser considerada como uma das características marcantes dessa região, uma vez que, essa bactéria se desenvolve com facilidade em ambientes frios e úmidos. Essa ocorrência serve como alerta e ressalta a importância da inclusão da espécie canina no controle e erradicação da brucelose na região.

Sendo assim, o estudo sugere que medidas de controle e profilaxia devem ser implantadas na região, com enfoque nos cães com perfil potencial para essa zoonose, pois esses animais podem servir de fonte de infecção, o que merecer atenção do ponto de vista de saúde pública.