

***Brucella canis* em canil comercial de Porto Alegre, Rio Grande do Sul,
Brasil: Relato de casos**

***Brucella canis* in commercial kennel of Porto Alegre, Rio Grande do Sul,
Brazil: Cases report**

André L. Souza, Márcia S.O. Scisleski, Marcos J.P. Gomes, Sandra M.T. Marques*

Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, BRASIL

Resumo: *Brucella canis* é a bactéria responsável pela brucelose canina, doença infecto-contagiosa que afeta canídeos e possui caráter zoonótico. Comumente, os sinais são ausentes ou inespecíficos, tornando o diagnóstico dependente de avaliação laboratorial. Este estudo teve como objetivo diagnosticar brucelose em cães provenientes de um canil comercial de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Foram avaliadas amostras de sangue e de soro de 44 cães das raças Beagle e American Staffordshire Terrier e processadas no Laboratório de Bacteriologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, através de prova sorológica de Agar Gel ImunoDifusão (AGID) e isolamento em meio seletivo de Farrel (MSFA). A soropositividade foi de 38,63% para a prova de AGID e isolamento de 13,63% na hemocultura em MSFA. Todos os animais encontrados positivos foram submetidos à antibioticoterapia e testados novamente em até seis meses pós-tratamento, resultando não-reagentes após este período. Conclui-se que o antígeno misto na prova da AGID mostrou-se eficiente e seguro para a detecção de anticorpos anti-*Brucella canis* e comprovado pelo isolamento em MSFA.

Summary: Canine brucellosis is a contagious infection caused by the bacterium *Brucella canis*, a zoonotic disease that affects canids. Usually, the signs of the disease are absent or nonspecific, therefore the diagnosis requires laboratory analysis. This study aimed to diagnose brucellosis in dogs from a commercial kennel in the city of Porto Alegre, state of Rio Grande do Sul, Brazil. Blood serum samples from 44 Beagle and American Staffordshire Terrier dogs were evaluated and processed at the Veterinary Bacteriology Laboratory of the Federal University of Rio Grande do Sul, in a total of 54 agar gel immunodiffusion (AGID) tests and 43 blood culture tests in Farrell's medium (BCFM). Seropositivity was 38.63% for the AGID tests and 13.63% for the blood culture tests. All animals found positive were submitted to antibiotic therapy and tested again up to six months after treatment, not reacting after this period. It was concluded that the mixed antigen in the AGID test proved to be efficient and safe for the detection of anti-*Brucella canis* antibodies and was confirmed by isolation in BCFM.

*Correspondência: smtmuni@hotmail.com

Introdução

A brucelose canina é uma doença infecto-contagiosa causada por *Brucella canis*, uma bactéria Gram-negativa, não esporulada e imóvel. Tem distribuição mundial e afeta canídeos domésticos e silvestres e o homem. Este gênero é composto por diversas espécies e classificada conforme o hospedeiro (Markey et al., 2013). Geralmente é assintomática, com predomínio de sintomas de caráter reprodutivo, como prostatite, orquite, epididimite, aborto e infertilidade. Causa bacteremia de longa duração (6-60 meses), iniciando entre uma a quatro semanas após a infecção. Pode ainda derivar algumas complicações, como artrite, linfadenomegalia, discospondilite, meningite e encefalite. A principal forma de transmissão é pela penetração de partículas dispersas contendo material infeccioso nas mucosas nasal, oral e conjuntival, sobretudo se houver superlotação. Também pode ser transmitida via venérea, transmamária e transplacentária (Carmichael e Greene, 2012).

Os sinais clínicos pouco evidentes e inespecíficos ou ausentes acarretam na dificuldade do diagnóstico clínico. A aplicação de testes laboratoriais, como o isolamento e a sorologia são ferramentas de irrefutável relevância na avaliação dos animais em fase pré-nupcial, previamente à entrada em um novo plantel ou mesmo inclui-lo sempre que houver histórico de falha na reprodução. A soroaglutinação em placa (SAR) e o teste de aglutinação em tubo com mercaptoetanol são testes disponíveis no mercado, rápidos, porém de alto índice de falsos-positivos. Por isso, caso o exame resulte em reagente, recomenda-se a confirmação com histopatologia, ensaios de PCR, isolamento a partir da cultura microbiológica de amostras sanguíneas, urina ou tecidos, ou com Agar Gel ImunoDifusão (AGID). Quando são utilizados antígenos solúveis extraídos do citoplasma de *B. canis*, a prova é bem específica e capaz de detectar anticorpos circulantes em animais cronicamente infectados (Wanke, 2004; Silveira et al., 2015).

Cães domésticos e canídeos selvagens são os mais suscetíveis (Minharro et al., 2005). Animais impúberes e sexualmente maduros estão igualmente expostos ao risco da infecção. A transmissão do cão para o homem ocorre mais frequentemente nas pessoas que trabalham com cães infectados. Apesar disto, apenas os cães e outros canídeos selvagens são creditados como hospedeiros definitivos verdadeiros. A transmissão inter-humana é rara. O modelo de infecção por *B. canis* em humanos ainda é pouco esclarecido. Importante registrar que o

manejo é um fator de risco, com significância estatística, sendo que animais com frequência de passeio na rua ou do tipo solto têm contato com maior número de animais, aumentando as chances de infecção (Silveira et al., 2015).

A brucelose tem importância na clínica veterinária devido ao caráter assintomático e prevalência variável, devido às diferentes metodologias na obtenção das amostras com sensibilidade e especificidade diferentes, de fase aguda ou crônica. Em cães comerciais, a infecção se dissemina mais rapidamente, acometendo um elevado número de animais e causando problemas econômicos decorrentes das perdas reprodutivas (Carmichael e Greene, 2012). Este estudo objetivou determinar a presença de *Brucella canis* em cães provenientes de um canil comercial de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Relato de casos

O proprietário de um canil comercial instalado em Porto Alegre compareceu no Laboratório de Bacteriologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) para solicitar diagnóstico de brucelose em seu plantel de cães, após atendimento no Hospital de Clínicas Veterinárias (HCV) da UFRGS com esta suspeita. O trabalho de coleta foi executado pelo Médico Veterinário responsável técnico pelo canil. Todos os cães eram vacinados e desverminados sob supervisão do Médico Veterinário e o canil era regulamente limpo com desinfetante comercial. Foram coletadas amostras de sangue e de soro de um total de 44 cães, 25 fêmeas e 19 machos, 37 adultos e sete filhotes, dois da raça American Staffordshire Terrier e 42 da raça Beagle, em 2015. As amostras de sangue foram coletadas das veias jugulares dos animais em tubos de vácuo com ativador de coagulação de sílica microlizada para realização de sorologia pelo método de AGID e em tubos com anticoagulante ácido cítrico-citrato de sódio (ACD) para hemocultura com o MSFA. Antígenos mistos home-made, extraídos do lipopolissacarídeo da parede celular e do citoplasma do micro-organismo, foram utilizados para os testes de AGID, em lâminas lisas de microscopia, seguindo o padrão descrito por ALTON et al. (1988). O encontro dos antígenos solúveis com os anticorpos do soro em um meio semissólido de Agar reage formando um precipitado visível a olho nu, em até 72h após incubação. A presença de uma linha de precipitação entre o soro-teste e o antígeno caracteriza uma reação positiva. As amostras de sangue com anticoagulante ACD foram inoculadas no MSFA (Farrel, 1974),

congeladas por 24 horas e incubadas a 37°C por 5 a 7 dias. Na sequência, foram subcultivadas em Ágar sangue e incubadas por 3 a 7 dias a 37°C. A confirmação do isolamento é realizada pelas características morfotinturiais (coloração de Gram) e bioquímicas (testes de oxidase, redução de nitrato e hidrólise rápida da ureia, citrato, Voges Proskauer e vermelho de metila). No teste de AGID, 38,63% (17/44) foram reagentes, sendo 11 fêmeas (nove adultas; dois filhotes) e seis machos adultos. Na hemocultura, 13,63% (6/44), três fêmeas e três machos adultos, tiveram microorganismos isolados e identificados como sendo de *B. canis*, das quais, também foram positivas no teste de AGID. Foram submetidos a tratamento com antibiotioterapia e, dois a três meses pós diagnósticos, todos foram retestados através do MSFA. Seis meses depois, quatro animais, dos positivos para hemocultura, foram testados via AGID. Todos os exames resultaram negativos. Nenhum animal apresentava sinais de falha na reprodução ou quaisquer das complicações advindas da brucelose canina. Todos os cães eram vacinados e desverminados em canil regulamente limpo com desinfetantes comuns, em condições de sanidade.

Resultado e discussão

O resultado dos testes laboratoriais é mostrado na Tabela 1. Dos cães soropositivos, 38,63% (17/44) são da raça Beagle. Nenhum cão apresentava sinais de falha na reprodução ou qualquer complicação advinda da brucelose.

Tabela 1 - Resultado de exames sorológicos de cães de um canil comercial de Porto Alegre,

Teste	Positivo (%)	Negativo (%)	Total (%)
AGID	17 (38,63)	27 (61,37)	44 (100)
MSFA	6 (13,63)	38 (86,37)	44 (100)

Para o teste de AGID, 44% (11/25) das amostras positivas foram de fêmeas (nove adultas e dois filhotes) e 31,57% (6/19) de machos adultos. Os isolados em MSFA e identificados como *B. canis* foi de 12% (3/19) de fêmeas adultas e 15,78% (3/19) de machos adultos. Todos os animais que tiveram positividade para o isolamento também foram positivos na AGID.

Segundo Silveira et al. (2015), dentre os vários protocolos de tratamento desenvolvidos ao longo dos anos, quatro

mostraram-se relativamente eficazes. Neste relato, os animais foram submetidos ao tratamento com doxiciclina, dose 10 mg/ Kg-1, durante 21 dias. Todos os cães foram monitorados e testados novamente após três meses através do método MSFA. Seis meses depois, quatro animais foram testados mais uma vez, via AGID com resultado negativo. Os resultados obtidos nesse trabalho corroboram com outros autores que também obtiveram sucesso no tratamento da doença utilizando as mesmas drogas em dosagens semelhantes (Nelson e Couto, 2015; Silveira et al., 2015).

Em termos globais, registros de prevalência da brucelose canina ainda são escassos. Conforme Silveira et al. (2015), as estimativas no sul dos Estados Unidos e no Japão registram prevalência de 7-8% em cães. No entanto, as verdadeiras taxas de prevalência e outros aspectos epidemiológicos da brucelose canina ainda são desconhecidos. As pesquisas no Brasil possuem variações de prevalências, com métodos sorológicos distintos, materiais de coleta díspares, animais com diferentes tempos de infecção, de cães comerciais e de cães errantes, com ou sem histórico de falhas na reprodução (Porto et al., 2008; Machado et al., 2013). A prevalência de 38,63% nos cães deste canil foi superior a alguns relatos, como por exemplo de 2,53% em cães do Rio de Janeiro (Ferreira et al., 2007) e de 28,9% em Natal (RN) (Fernandes et al., 2013).

O médico veterinário deve orientar o proprietário do canil comercial acerca de fatores epidemiológicos concorrentes na brucelose canina. Ter em mente que, em condições de alta umidade, temperaturas baixas e sem luz solar, *B. canis* pode permanecer viável por vários meses na água, fetos abortados, fezes, equipamentos e vestuário, além de resistir à secagem, particularmente quando o material orgânico está presente, e pode sobreviver na poeira e no solo. Portanto, é primordial que a higiene rigorosa e sistemática prevaleça (Silveira et al., 2015).

O monitoramento epidemiológico facilita a identificação prévia e rápida dos animais infectados e evita sua entrada em canis. O diagnóstico precoce é uma excelente ferramenta de controle e prevenção, além de ser uma forma de obtenção de dados estimativos da sua prevalência. Ter em mente que a hemocultura negativa não exclui a hipótese de infecção por *B. canis* especialmente nos casos de infecção crônica, porém a hemocultura positiva confirma o diagnóstico. Devido à localização intracelular em células do sistema mononuclear fagocitário, a bactéria pode ser recuperada a partir de aspirados de medula óssea na ausência de hemocultura positiva. As

desvantagens da hemocultura são que pode levar semanas para obtenção dos resultados, além de fornecer resultados falso-negativos pelo insucesso no isolamento do agente em virtude da *B. canis* apresentar bacteremia intermitente (Almeida et al., 2004).

O tratamento e profilaxia é a esterilização dos reprodutores e a desinfecção apropriada do ambiente com amônia quaternária ou iodóforos, reduzindo a transmissão venérea, porém não erradica a infecção. A antibioticoterapia e monitoramento sorológico podem auxiliar a eficácia do tratamento, mesmo sendo difícil a eliminação do agente (Carmichael e Greene, 2012; Nelson e Couto, 2015).

A prevenção de *B. canis* é extremamente importante, especialmente em grandes canis e se baseia em medidas sanitárias, controle sorológico regular dos animais do canil, eliminação dos positivos, isolamento das fêmeas em parição, desinfecção sistemática do canil, quarentena antes da introdução de novos animais. Os testes sorológicos devem ser realizados duas vezes com intervalo de um mês em todos os cães a serem introduzidos em um canil de reprodução. As cadelas devem ser testadas várias semanas antes do cio esperado. Nenhum animal novo deve ser introduzido dentro da colônia de reprodução até que tenham sido considerados negativos a dois testes com um intervalo de um mês. Os testes em todos os animais em um canil devem ser realizados ao menos uma vez ao ano ou se forem observadas alterações reprodutivas ou abortos (Almeida et al., 2004).

Não há no Brasil teste oficial junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o diagnóstico de *B. canis*, tampouco a obrigatoriedade de notificação. É preocupante que pouco se tem feito para o controle da brucelose canina de uma forma sistematizada no país, apenas em alguns canis comerciais. Muitos casos de infecção por *B. canis* não são relatados, principalmente pela não obrigatoriedade de notificação pelo MAPA. Desta forma a vigilância deve ser realizada pelos clínicos de pequenos animais e proprietários de cães e de canis para impedir que a doença se propague (Minharro et al., 2005).

O controle torna-se um dilema, quando a brucelose é diagnosticada num criatório. A eliminação da infecção demanda tempo e custos, mas a doença pode apresentar uma crise emocional ou quando cães de valor genético são acometidos. A prevenção da reprodução em canis/criatórios deverá incluir um plano de monitoramento além de cuidados sanitários e de higiene.

Bibliografia

- Almeida AC, Santorelli A, Bruzadelli RMZ, Oliveira MMNF (2004). Soroepidemiologia da brucelose canina causada por *Brucella canis* e *Brucella abortus* na cidade de Alfenas, MG, Brasil. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 56, 275-276.
- Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM (1988). Techniques for the Brucellosis Laboratory. 1ª ed. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA, Paris), 190 p. 149-153.
- Carmichael LE, Greene CE (2012). Canine Brucellosis. In: Greene CE. Infectious Diseases of the Dog and Cat. 4ª Ed., Elsevier (St. Louis), p. 398-409.
- Farrell ID (1974). The development of a new selective medium for the isolation of *Brucella abortus* from contaminated sources. Research in Veterinary Science, 16, 280-286.
- Fernandes ARF, Fernandes AG, Rotondano TEF, Alves CJ, Peixoto PC, Mota RA, Azevedo SS (2013). Inquérito sorológico e molecular da brucelose canina no município de Natal, Estado do Rio Grande do Norte. Ciência Rural, 43, 1629-1635.
- Ferreira TMA, Mandelbaum APL, Marques HM, Torres MJ, Figueiredo CMB, Serra MHCA (2007). Inquérito sorológico da brucelose canina através da utilização de antígeno externo e interno de *Brucella canis* e *Brucella ovis*. Revista Brasileira de Ciências Veterinárias, 14, 167-168.
- Machado MA, Soler NB, Freitas JC (2013). Porcentagem de cães soropositivos para *Brucella canis* apresentando problemas reprodutivos atendidos no hospital veterinário da Universidade Estadual de Londrina. ARS Veterinária, 29, 161-168.
- Markey BK, Leonard F, Archambault M, Cullinane A, Maguire D (2013). Clinical Veterinary Microbiology. 2nd Ed. Elsevier (Edinburgh), p. 325.
- Minharro S, Cotorello ACP, Miranda KL, Stynen APR, Alves TM, Lage AP (2005). Diagnóstico da brucelose canina: dificuldades e estratégias. Revista Brasileira de Reprodução Animal, 29, 167-173.
- Nelson RW, Couto CG (2015). Medicina Interna de Pequenos Animais. 5th Ed. Elsevier (Rio de Janeiro), 925-926.
- Porto WJN, Junior JWP, Mota RA (2008). Associação entre distúrbios reprodutivos e anticorpos anti-*Brucella* sp em cães atendidos em clínicas particulares da cidade

- de Maceió-AL. Revista Brasileira de
Ciência Veterinária, 15, 6-9.
- Silveira JAM, Moraes GB, Macambira KDS,
Xavier Júnior FAF, Pessoa NO,
Evangelista JSAM (2015). Brucelose canina:
Uma abordagem clínica. Revista Brasileira
de Higiene e Sanidade Animal, 9, 252-265.
- Wanke MM (2004). Canine brucellosis. Animal
Reproduction Science, 82-83, 195-207.