

LÍGIA APARECIDA DE SOUZA

T636.083 69

S729 p

2001

**PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO POR *Brucella canis* NA REGIÃO METROPOLITANA DE
BELO HORIZONTE – MG, NO PERÍODO DE DEZEMBRO DE 1999 A JUNHO DE 2000**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Epidemiologia

Orientador Acadêmico: Jenner Karlisson Pimenta dos Reis

Orientador de Dissertação: Andrey Pereira Lage

Belo Horizonte
UFMG – Escola de Veterinária
2001

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

29/03/02

712102-04

0330-72960

S729p Souza, Lígia Aparecida de, 1965-
2001 Prevalência de infecção por *Brucella canis* na região metropolitana de Belo Horizonte – MG, no período de dezembro de 1999 a junho de 2000 / Lígia Aparecida de Souza. –Belo Horizonte: UFMG-Escola de Veterinária, 2001.
27p.: il.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária
1. Cão – Doenças – Belo Horizonte (MG) – Teses. 2. Brucelose em animais – Belo Horizonte (MG) – Teses. I. Título.

CDD – 636.708 96

Dissertação defendida e aprovada em 29 de março de 2001, pela Comissão Examinadora constituída por:




Prof. Andrey Pereira Lage
Orientador de Dissertação



Dra. Isabella Bias Fortes Ferraz



Dr. Daniel Stancek



Prof. José Brito Figueiredo

*"Of this we may be sure, that science, in obeying the law of humanity,
will always labor to enlarge the frontiers of life."
Louis Pasteur*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Jenner Karlisson Pimenta dos Reis pela orientação.

Ao Prof. Andrey Pereira Lage pela orientação e colaboração.

A Profa. Marilene Susan Marques Michalick por ceder as amostras de soros de cães utilizadas neste experimento.

Ao Prof. Ivan Barbosa Machado Sampaio.

Ao Prof. José Ailton da Silva.

A Escola de Veterinária da UFMG e professores que contribuíram direta e indiretamente em minha formação científica.

Ao Dr. Daniel Stancek pela amizade.

Aos colegas do Curso de Mestrado e Doutorado, em especial, Úrsula, Rizaldo & Alice, Cristina, Kiki, Kelly, Marita, José Renato, Guilherme, Margarete, Eliane, Hélio, Beth, Cristiano, Valéria, Luciana e Érica.

Ao colega de mestrado Sérgio Andres Arias Serrato pela grande colaboração na reta final deste trabalho.

Ao Guilherme Domingos Romano Oliveira pela convivência, amizade e colaboração.

As funcionárias do Laboratório de Sorologia (ICB-UFMG) Elza, Lúcia e Rosa pela convivência e amizade.

Ao Colegiado dos Cursos de Pós Graduação da Escola de Veterinária pela atenção e colaboração.

Ao Diretor do Hospital Veterinário Prof. Paulo Marcos Ferreira.

Ao Prof. Geder Paulo Hermann (UFSM), pela atenção e colaboração.

As funcionárias Creide e Elisete do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG pela atenção.

As veterinárias Renata C. A. Vianna, Lilian F. de Sousa e Carla F. Soares pela colaboração na realização deste trabalho.

Aos colegas de laboratório Leandro e Micheline.

Aos funcionários da Biblioteca da Escola de Veterinária, pela atenção.

Aos funcionários da Escola de Veterinária: Jorge, Nelson, Eduardo, Júnia, Creuza, Luciana, Renata, Doracy.

A Nádia Maria da Silva pela atenção e amizade.

As Clínicas Veterinárias da região metropolitana de Belo Horizonte pela colaboração na realização deste trabalho.

Ao Instituto de Tecnologia do Paraná – TECPAR, na pessoa do Médico Veterinário Dr. Jorge Victor Bacila Agottani pela cessão dos Antígenos para diagnóstico de Brucelose Canina utilizados no experimento.

A Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia - Coordenação Preventiva pelo apoio financeiro.

A Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior - CAPES - pela concessão da bolsa de mestrado.

A minha amiga Eliane Harumi Yorinori pela convivência, colaboração e amizade.

A minha família, em especial meus queridos pais Teodomiro & Sônia.

As minhas irmãs Natália, Rosimary, Rosilene e meu irmão Luciano pelo carinho, compreensão e apoio.

A DEUS.

SUMÁRIO

		Pág.
	RESUMO	11
	ABSTRACT	11
1.	INTRODUÇÃO	13
2.	LITERATURA CONSULTADA	13
2.1.	Brucelose Canina	13
2.2.	Freqüência de <i>Brucella canis</i> na América, Ásia e Europa	14
2.2.1.	América	14
2.2.1.1.	Brasil	15
2.2.2.	Ásia	16
2.2.3.	Europa	16
2.3.	Testes sorológicos utilizados para diagnóstico de infecção pela <i>Brucella canis</i>	17
3.3.	MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1.	Animais	17
3.2.	Imunodifusão em gel de Ágar (IDGA) para diagnóstico de Brucelose canina	17
3.3.	Análise estatística	18
4.	RESULTADOS	18
5.	DISCUSSÃO	21
6.	CONCLUSÕES	22
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
	ANEXO I	26
	ANEXO II	27

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Freqüência de cães reagentes à imunodifusão em gel de ágar para Brucelose Canina, segundo o sexo, em Belo Horizonte – MG, no período de dezembro de 1999 a junho de 2000	18
TABELA 2	Freqüência de cães reagentes à imunodifusão em gel de ágar para Brucelose Canina, segundo a idade, < 24 e ≥ 24 meses, em Belo Horizonte – MG, no período de dezembro de 1999 a junho de 2000	19
TABELA 3	Freqüência de cães reagentes à imunodifusão em gel de ágar para Brucelose Canina, segundo a raça, em Belo Horizonte – MG, no período de dezembro de 1999 a junho de 2000	20
TABELA 4	Freqüência de cães reagentes à imunodifusão em gel de ágar para Brucelose Canina, segundo as Administrações Regionais, em Belo Horizonte – MG, no período de dezembro de 1999 a junho de 2000	20

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Freqüência de raças na população canina estudada em Belo Horizonte, MG, no período de dezembro de 1999 a junho de 2000	19
-----------	--	----

RESUMO

O presente estudo investigou a prevalência de infecção pela *Brucella canis* na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais e sua associação com raça, idade, sexo e procedência dos cães. Foram analisados 1368 soros de cães pela prova de imunodifusão em gel de ágar utilizando antígeno de *Brucella ovis*. Os resultados encontrados indicaram prevalência de infecção pela *Brucella canis* igual a 4,8% (65/1368)(IC 95%: 3,7% a 5,9%). As frequências para machos e fêmeas foram 3,3% (29/876) e 1,6% (14/876), respectivamente. De acordo com os dois grupos de idade foi observada frequência igual a 0,8% (6/784) em cães com menos de 24 meses de idade e 4,0% (32/784) em cães com idade igual ou maior que 24 meses. Quanto a distribuição racial, houve predomínio de cães SRD (26,5%) e das raças Pastor (16,5%) e Poodle (9,7%), sendo que a frequência de animais reagentes à IDGA nestes grupos foi de 3,9%, 3,7% e 1,8%, respectivamente. Quando as administrações regionais foram consideradas, nenhuma diferença significativa foi observada. Assim, a prevalência de *Brucella canis* na cidade de Belo Horizonte foi baixa e nenhuma diferença significativa foi observada entre animais reagentes com referência ao sexo, raça, idade e procedência.

Palavras chave: *Brucella canis*, cão, prevalência, Belo Horizonte.

ABSTRACT

The present survey aimed to determine the prevalence of *Brucella canis* infection in Belo Horizonte, MG, Brazil and its association with sex, age, breed and city district. A total of 1368 sera from dogs were analyzed by the agar gel immunodiffusion test with *Brucella ovis* antigen. The results show that the prevalence of *Brucella canis* infection was 4.8% (95% CI: 3.7% to 5.9%). Prevalences for males and females were 3.3% and 1.6%, respectively. According to two groups of age prevalence was 0.8% in dogs < 24 months and 4.0% these ≥ 24 months. The most frequent breeds were mixed breed (26.5%), Shepherd Dog (16.5%) and Poodle (9.7%) and the frequency of reagents animals in these groups was 3.9%, 3.7% and 1.8%, respectively. When city districts were considered, no significant difference was observed among them. In conclusion, *Brucella canis* prevalence was low and no statistically significant differences were observed as far as sex, breed, age and origin of investigated dogs were concerned.

Key-words: *Brucella canis*, dog, prevalence, Belo Horizonte, Brazil.

1 INTRODUÇÃO

Diante da urbanização e mudanças sociais nas últimas décadas, a população humana cresceu acompanhada pelo aumento da população canina. Segundo Rojas (1976), as grandes migrações humanas do campo para a cidade, a formação de conglomerados marginais urbanos e os problemas sociais levam ao incremento da população canina. Silva, em 1980, encontrou a relação de 8,62 pessoas por cão na cidade de Belo Horizonte. De acordo com dados do censo canino do ano 2000 divulgado pelo Serviço de Controle de Zoonoses da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte, a relação é de 8,0 pessoas por cão (Anexo II).

O fato do cão ser considerado um animal de estimação para o homem implica em problemas de saúde pública, pois ele pode ser responsável pela transmissão de várias zoonoses, dentre elas, a Brucelose Canina, doença causada pela *Brucella canis*.

Além de ser considerada uma zoonose, a Brucelose Canina tem grande importância econômica para criadores de cães de raça, no que diz respeito ao aborto e infertilidade. Outro problema se refere a população canina sem domicílio, que se infecta e transmite a doença para animais susceptíveis no período de acasalamento.

O presente estudo teve por objetivo determinar a prevalência de infecção pela *Brucella canis* em cães na cidade de Belo Horizonte e estabelecer a associação entre Brucelose Canina com raça, idade, sexo e procedência dos animais.

2 LITERATURA CONSULTADA

2.1 Brucelose Canina

Brucella canis foi isolada pela primeira vez em 1966 por Carmichael em cães da raça Beagle que apresentavam históricos de abortos e nascimentos de ninhadas muito pequenas. Outras raças têm sido afetadas e perdas significativas têm ocorrido em canis particulares, principalmente naqueles de

criação, em que grande número de cachorros são criados para uso em pesquisas ou comercializados como animais de companhia (Carmichael & Shin, 1996).

A Brucelose Canina pode apresentar manifestações variadas, porém a maioria dos cães infectados não mostra sinais clínicos além dos associados a reprodução, de fêmeas e de machos (Carmichael, 1976).

O principal sinal clínico da fêmea infectada pela *Brucella canis* é o aborto (Carmichael & Joubert, 1988) que ocorre principalmente entre 45 e 59 dias de gestação (Carmichael & Greene, 1990; Johnson & Walker, 1992). A bacteremia, depois da fase inicial, pode se tornar intermitente e persistir por um, dois ou mais anos (Acha & Szyfres, 1989).

Nos machos, a doença causa epididimite, prostatite, orquite, atrofia testicular, freqüentemente unilateral, e patologias espermáticas (Carmichael & Kenney, 1970; Pilet & Quintin-Colonna, 1978; Currier et al., 1982; Berthelot & Garin-Bastuji, 1993). Outras manifestações incluem esplenite, lesões oculares, discospondilite e osteomielite (Currier et al., 1982; Acha & Szyfres, 1989).

Os cães infectados por *Brucella canis* não apresentam febre, tornando-se difícil o diagnóstico clínico. Entretanto, a Brucelose Canina pode ser confirmada se for constatada história de aborto, natimortos, infertilidade, epididimite ou atrofia testicular em cães sadios, presença de linfadenopatia e falhas repetidas nos acasalamentos (Moore & Gupta, 1970; Carmichael & Kenney, 1970; Carmichael, 1976).

O hospedeiro natural da *Brucella canis* é o cão (Acha & Szyfres, 1989) e este pode adquiri-la pela ingestão de restos de abortos, alimentos contaminados com urina, sêmen ou secreções vaginais de animais infectados. Em filhotes de mães infectadas, a bacteremia indica a possibilidade de transmissão congênita ou via leite (Schlemper & Vaz, 1990). A secreção mamária de fêmeas lactantes pode ser uma

fonte adicional de transmissão da *Brucella canis* (Corrêa & Corrêa, 1992).

Como na Brucelose de outros animais causada por *Brucella* spp, a *Brucella canis* também infecta cães via superfície de qualquer mucosa ou pele lesada. Entretanto, as cavidades oral, vaginal e conjuntival são as principais portas de entrada deste microorganismo (Corrêa & Corrêa, 1992).

A transmissão ocorre principalmente no período de acasalamento ou como resultado do contato com tecido fetal abortado e descarga vaginal (Vargas et al., 1996), sendo mais freqüente a transmissão por machos infectados que cruzam com fêmeas não infectadas, do que de fêmeas infectadas para machos não infectados (Corrêa & Corrêa, 1992).

Apesar do cão ser considerado o único animal em que a infecção ocorre naturalmente, há relatos na literatura sobre a prevalência de soros reagentes para *Brucella canis* em uma população de felinos e infecção experimental em gatos. Assim, o gato é considerado fonte de infecção para outros animais e para o homem (Larsson et al., 1984). Espécies de laboratório como ratos, coelhos e cobaias têm sido infectadas por *Brucella canis* (Moore & Gupta, 1970). Apesar de pouca importância epidemiológica (Acha & Szyfres, 1989), a transmissão da *Brucella canis* também pode ocorrer pela ação de artrópodes vetores (Peres et al., 1981).

2.2 Freqüência de *Brucella canis* na América, Ásia e Europa

2.2.1 América

Flores-Castro & Segura (1976) realizaram estudo sorológico e bacteriológico na cidade do México, no qual encontraram 28% (140/500) dos cães soropositivos para *Brucella canis* pelas provas de soroaglutinação em placa e em tubo. Estes mesmos autores isolaram *Brucella canis* de amostras de sangue de oito dos 140 animais com sorologia positiva e sem manifestação clínica.

Zamora et al. (1980), em estudo sorológico e bacteriológico, investigaram a presença de *Brucella canis* em cães na cidade de Valdivia, Chile, sendo que 16,67% (29/174) das amostras de soro examinadas foram soropositivas pela prova de soroaglutinação lenta. Das cinco hemoculturas realizadas, uma foi positiva para *Brucella canis* correspondendo a um dos animais com título de 400. Este foi sacrificado e *Brucella canis* isolada do baço, próstata e gânglio poplíteo.

Myers & Varela-Díaz (1980), para confirmarem um foco endêmico de *Brucella canis* em cães de rua na província de Moreno, Argentina, realizaram estudo sorológico e bacteriológico. Foram empregadas as provas de soroaglutinação lenta em tubo com 2-mercaptoetanol, contraímuno-elektroforese e imunodifusão em gel de ágar e o isolamento da *Brucella canis* pela hemocultura. Neste estudo, 30,5% (40/131) das amostras de soro foram positivas pela prova de soroaglutinação lenta em tubo com 2-mercaptoetanol, sendo que 24 amostras tiveram títulos de 200 a 3200. Dos 40 animais, 33 foram soropositivos pela técnica de contraímuno-elektroforese e 29 pela imunodifusão em gel de ágar.

Hoff & Nichols (1974) conduziram estudo sorológico com o objetivo de investigar a presença de *Brucella canis* na Florida, EUA. Pela prova de 2-mercaptoetanol com antígeno de *Brucella canis*, encontraram prevalência de 3,65% (10/274) de animais positivos para o agente do aborto canino. Outro estudo sorológico foi realizado em Nashville, Tennessee, por Fredrickson & Barton (1974) que pela prova de 2-mercaptoetanol testaram 228 soros, dos quais 121 eram de cães abandonados e 107 de cães de estimação. Títulos maiores ou iguais a 200 foram encontrados em 6,6% (8/121) dos soros de cães abandonados e em 1,9% (2/107) em não abandonados. Este estudo demonstrou prevalência de infecção ativa para *Brucella canis* 3,5 vezes maior em cães abandonados do que em não abandonados.

Devido a ocorrência de um caso humano de infecção por *Brucella canis* na cidade de Memphis, Tennessee (EUA), Lovejoy et al. (1976) investigaram 302 amostras de cães (confinados e de rua) na cidade de Memphis e distrito de Shelby e encontraram uma taxa de 10% de positividade em cães de rua em ambas comunidades.

Boebel et al. (1979) investigaram em estudo sorológico e cultura de sangue a presença de *Brucella canis* em 2.572 cães abandonados de distritos de Illinois e Wisconsin, EUA. Das amostras analisadas, 6,7% (173/2572) foram reativas na prova de soroaglutinação rápida e 1,5% (41/2572) na soroaglutinação lenta em tubo com 2-mercaptoetanol. A hemocultura foi positiva para seis (0,2%) animais que apresentaram título altos (≥ 200) na prova soroaglutinação lenta em tubo com 2-mercaptoetanol.

2.2.1.1 Brasil

Sandoval et al. (1976) realizaram inquérito sorológico com objetivo de investigar a presença de *Brucella canis* na cidade de São Paulo. Estes autores empregaram a prova de soroaglutinação lenta em tubo com 2-mercaptoetanol e encontraram 3,65% (8/221) de amostras de positivas para *Brucella canis*.

Na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Wald & Fernandes (1976) investigaram a prevalência de Brucelose Canina pela prova de soroaglutinação lenta. Estes autores encontraram 11,97% (23/192) de amostras positivas com título igual a 200.

Godoy et al. (1977) em pesquisa realizada na cidade de Belo Horizonte, isolaram e identificaram, pela primeira vez no Brasil, *Brucella canis* de cadela com histórico recente de aborto e que apresentava título igual a 200 pela prova de soroaglutinação lenta. Larsson et al. (1981), em São Paulo, investigaram a presença de Brucelose Canina em dois grupos distintos de animais (cães de canil comercial de reprodução e cães de rua) empregando a prova de soroaglutinação rápida em placa e soroaglutinação lenta em tubo. A prevalência de *Brucella canis* foi 9,1%

(15/164) pela prova de soroaglutinação rápida e 2,4% (4/164) pela soroaglutinação lenta em tubo no grupo de cães do canil comercial para reprodução. Na população de cães de rua, a prevalência foi 7,5% (15/200) pela prova de soroaglutinação em placa e 7,0% (14/200) pela soroaglutinação lenta em tubo.

Na cidade de Campinas, Germano et al. (1987) fizeram levantamento soroepidemiológico da infecção por *Brucella canis* pela prova de soroaglutinação rápida em placa com 2-mercaptoetanol. Foi observada prevalência de 5,4% (19/352) de cães reativos para *Brucella canis* de amostragem aleatória distribuída por todo o município. Além destes estudos, em 1988, Cortes et al. relataram que dos 3.386 cães errantes capturados pelo Programa de Controle de Reservatórios de Zoonoses da Secretaria de Higiene e Saúde do Município de São Paulo, 7,5% (254) foram reagentes para *Brucella canis* pela técnica de difusão em gel de ágar.

Schlemper & Vaz (1990) investigaram a presença de aglutininas para *Brucella canis* em soros de cães das zonas rural e urbana da região do planalto Catarinense. Estes autores encontraram prevalência de 6,0% em cães da zona urbana e 3,0% da zona rural dos 334 soros examinados.

Na cidade de Uruguaiana (RS), Vargas et al. (1996) relataram a ocorrência de surto de infecção por *Brucella canis*, no qual 72,7% (8/11) dos animais de um canil em que havia registros de aborto foram positivos ao teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA).

Melo et al. (1998) investigaram pela prova de imunodifusão em gel de ágar a presença de infecção por *Brucella canis* em soros de cães do distrito de Monte Gordo - Camaçari - Bahia e encontram positividade de 37% (40/108).

A ocorrência de *Brucella canis* e *Brucella abortus* em cães foi investigada por Maia et al. (1999) nas cidades do Rio de Janeiro e Niterói - RJ, pelas provas de imunodifusão em gel de ágar e de soroaglutinação em

placa, respectivamente. Cento e setenta e um soros de cães foram analisados, nenhum soro foi reagente para *Brucella abortus*, porém 25,7% (44/171) demonstraram positividade para *Brucella canis*.

No Rio Grande do Sul, Gomes et al. (1999) isolaram a *Brucella canis* do epidídimo e testículo de um cão que apresentava epididimite, orquite e atrofia testicular. O agente do aborto canino foi identificado pelas características morfológicas, tintoriais bioquímicas e sorológicas. Pela prova de imunodifusão em gel de ágar detectou-se a presença de anticorpos contra a *Brucella canis* no soro deste cão e de outros três do mesmo domicílio.

2.2.2 Ásia

Pillai et al., em 1991, realizaram estudo sorológico e bacteriológico para detectar a presença de infecção por *Brucella canis* na cidade de Madras, Índia. Foram empregadas as provas de soroaglutinação lenta em tubo com 2-mercaptoetanol e contraímunoeletroforese e encontrada prevalência de 2,18% (14/640) nas amostras estudadas. Neste mesmo estudo foram isoladas pela primeira vez na Índia, por hemocultura, amostra típica de *Brucella canis* e outra de *Brucella suis*, de cães.

Em 1992 outro estudo foi realizado na cidade de Madras, Índia, por Srinivisan et al. que investigaram a presença de infecção por *Brucella canis*, *Brucella abortus* e *Brucella melitensis* pelas provas de soroaglutinação lenta, em tubo, com e sem 2-mercaptoetanol. Das amostras, 1,96% (9/460) foram positivas para *Brucella canis* e nenhuma para *Brucella abortus* e *Brucella melitensis*.

Ueda et al. (1974) realizaram a prova de soroaglutinação em 112 amostras de soros e detectaram a presença da infecção por *Brucella canis* em cães de uma área de Tóquio, Japão. Das amostras analisadas, 3,6% (4/112) apresentaram títulos ≥ 100 indicando positividade para *Brucella canis*.

Em 1979, Wada et al. investigaram em estudo sorológico a presença de aglutininas para *Brucella canis* em cães do distrito de Kyushu, Japão. A prova soroaglutinação lenta em tubo foi utilizada, sendo considerados positivos os animais com títulos ≥ 640 . Neste estudo, 1,6% (27/1739) dos cães foram positivos para *Brucella canis*.

Katami et al. (1991) realizaram estudo epidemiológico em Towada, Japão, no qual os resultados mostraram prevalência de 1,9% (5/259) pela prova de soroaglutinação em tubo. A *Brucella canis* foi isolada do sangue de cão que apresentou título de 640.

2.2.3 Europa

Na Alemanha, von Kruedener (1974) isolou e identificou pela primeira vez *Brucella canis* de um canil de Beagles com histórico de aborto que ocorria entre 10 a 12 dias antes da data prevista de parto. Em 1978, neste mesmo país, Weber & Schliesser (1978) realizaram estudo soroepidemiológico, no qual encontraram 6,1% (61/1000) de cães positivos pela prova de soroaglutinação lenta.

Mateu de Antonio et al. (1998) investigaram a prevalência de infecções por *Brucella* em cães de duas regiões da Espanha, Catalúnia e Castilha e León. Para determinar a presença de anticorpos contra *Brucella canis* empregou-se a prova de soroaglutinação rápida em placa, e os resultados positivos foram confirmados pela imunodifusão em gel de ágar, ambas com antígeno de *Brucella canis*. Foi encontrada prevalência de 4,5% (56/1234) para infecção por *Brucella canis*, nas duas regiões sem diferenças significativas quanto a origem dos animais, se cães de companhia ou de rua.

Na Inglaterra, Taylor (1980) realizou estudo sorológico pela prova de Rosa Bengala. Das 169 amostras de soro de cães analisadas, três foram positivas para *Brucella abortus* pelo teste Rosa Bengala e apresentaram títulos de 20, 40 e 640 pela prova de soroaglutinação lenta. Anticorpos anti-

Brucella canis foram detectados em duas das 169 amostras de soro pelos mesmos testes, com títulos de 320 e 1280.

2.3 Testes sorológicos utilizados para diagnóstico de infecção por *Brucella canis*

Testes sorológicos são usados frequentemente para diagnóstico de infecção pela *Brucella canis*, por serem rápidos e de fácil execução (Carmichael & Greene, 1990). Dentre eles se destacam soroaglutinação rápida com 2-mercaptoetanol, soroaglutinação lenta com 2-mercaptoetanol, imunodifusão em gel de ágar (Greene & George, 1984) e ELISA (Mateu-de-Antonio et al., 1993).

Segundo Myers et al. (1974), o método de imunodifusão em gel de ágar empregado para diagnóstico de *Brucella ovis* pode ser usado para detectar presença de anticorpos contra *Brucella canis*. Há dois tipos de antígenos usados nos testes de imunodifusão em gel de ágar, o primeiro extraído da parede celular de *Brucella canis* ou *Brucella ovis*, o segundo liberado por sonicação do citoplasma de *Brucella canis* ou de outra *Brucella* sp (Carmichael & Greene, 1990; Carmichael & Shin, 1996).

O teste de imunodifusão em gel de ágar utilizando antígeno de superfície rugosa é específico para amostras de *Brucella ovis* ou *Brucella canis*, que reagem com soro de animal infectado com *Brucella canis* (Myers et al., 1974). Com relação ao antígeno citoplásmico interno de *Brucella canis*, também usado no teste de imunodifusão em gel de ágar, pode ocorrer reações positivas se a infecção for causada por outros microorganismos do gênero *Brucella* (Johnson & Walker, 1992), pois ambas amostras, lisas e rugosas, têm em comum o antígeno citoplásmico interno (Greene & George, 1984).

Segundo Carmichael & Shin (1996), o teste de soroaglutinação rápida com 2-mercaptoetanol foi desenvolvido como prova de investigação para diagnóstico presuntivo de Brucelose Canina. O teste é simples de executar, rápido e com alta sensibilidade,

entretanto é comum reações falso-positivas. Devido este fato, a soroaglutinação rápida com 2-mercaptoetanol não é considerada uma prova definitiva para o diagnóstico de infecção por *Brucella canis* (Johnson & Walker, 1992).

Soroaglutinação lenta em tubo com 2-mercaptoetanol é outro teste utilizado na investigação de infecção por *Brucella canis* (Carmichael & Shin, 1996), principalmente para confirmar infecção por animais que foram positivos no teste de soroaglutinação rápida (Carmichael & Greene, 1990). O teste é semiquantitativo e resultados falso-positivo são comuns (Johnson & Walker, 1992).

O teste ELISA foi desenvolvido por Mateu-de-Antonio et al. (1993) para o diagnóstico de infecção por *Brucella canis* em cães utilizando como antígeno a variante (M-) de *Brucella canis*. De acordo com estes autores, o teste ELISA demonstrou ser altamente sensível e específico quando comparado com outros teste sorológicos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

O estudo epidemiológico foi realizado com soros de 1368 cães. Os soros foram enviados ao Laboratório de Sorologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG para o diagnóstico da Leishmaniose no período de Dezembro de 1999 a Junho de 2000.

As amostras foram armazenadas a -20°C no Laboratório de Bacteriologia Aplicada do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG até o momento da execução dos testes. Todos os dados referentes ao sexo, a idade, a raça e a região de origem dos animais foram coletados das fichas do Laboratório de Sorologia do ICB-UFMG.

3.2 Imunodifusão em gel de ágar (IDGA) para diagnóstico de Brucelose Canina

A imunodifusão em gel de ágar (IDGA) foi realizada com antígeno extraído da parede

celular de *Brucella ovis* (Tecpar-Paraná), segundo Alton et al. (1988), modificado.

Os testes foram realizados em lâmina contendo agarose a 1% em tampão borato 0,1 M pH 8,6. Foi utilizado furador com roseta de seis furos periféricos e um central, com orifícios de 4 mm de diâmetro e 3 mm entre os orifícios.

Como controle positivo foi utilizado soro de cão, do qual se isolou *Brucella canis*¹. O soro deste animal foi testado conjuntamente com soro de ovino, controle positivo adquirido junto com o antígeno, confirmando a positividade do soro de cão pela formação de linhas de identidade com o soro controle positivo de ovino. O soro de cão apresentou título de 32 e foi utilizado em todos os testes como controle positivo.

Em cada roseta, o orifício central recebeu 30µL de antígeno, os orifícios 1, 3 e 5 receberam 30µL de soro controle positivo (soro de cão positivo para *Brucella canis*) e os orifícios 2, 4 e 6, 30µL de soro de cães a serem testados.

Foram consideradas positivas as reações onde houve formação de uma linha de precipitação nítida entre o soro teste e o antígeno e identidade com o soro controle positivo.

3.3 Análise Estatística

A prevalência de Brucelose Canina em Belo Horizonte foi calculada segundo Noordhuizen et al. (1997). As associações entre Brucelose Canina e sexo, idade, raça e origem dos animais foram analisadas pelos testes do Qui-quadrado e exato de Fisher, sendo $P < 0,05$ considerado como significativo (Siegel, 1975). Para a realização das análises foi utilizado o programa Epi Info 6.0 (Dean et al., 1995).

4 RESULTADOS

Dos 1368 soros de cães testados pela prova da IDGA, 65 foram positivos, sendo encontrada uma prevalência da infecção igual a 4,75%, com intervalo de confiança de 95%, variando de 3,7% a 5,9%. Oitocentos e setenta e seis amostras possuíam fichas contendo dados relativos ao sexo. Deste total, 43 amostras foram reagentes para infecção pela *Brucella canis*, sendo 14 fêmeas e 29 machos (Tabela 1).

Foi observado que não houve diferença estatisticamente significativa entre a frequência de animais reagentes à prova de IDGA para Brucelose Canina em relação ao sexo ($\chi^2=3,24$; gl=1; $P = 0,071$).

Tabela 1. Frequência de cães reagentes à imunodifusão em gel de ágar para Brucelose Canina, segundo o sexo, em Belo Horizonte - MG, no período de dezembro de 1999 a junho de 2000.

Sexo	IDGA ¹	Total
	Animais reagentes (%)	
Fêmeas	14(1,6)	402
Machos	29(3,3)	474
Total	43(4,9)	876

1-IDGA: Imunodifusão em gel de ágar para Brucelose Canina

2- $\chi^2=3,24$ gl=1 $P = 0,071$

A associação entre idade dos animais e infecção por *Brucella canis* foi analisada de acordo com a faixa etária: idade < 24 e ≥ 24 meses (Tabela 2). De 784 amostras de soro, cujas fichas continham a idade dos animais, 38 foram reagentes à IDGA.

Não houve diferença significativa entre a frequência de animais positivos à IDGA para *Brucella canis* nas faixas etárias estudadas.

¹ Lage, A. P. Isolamento de *Brucella canis* de testículo de cão. 2000.

Escola de Veterinária da UFMG - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. Telefone: (0XX31)34992075.

Tabela 2. Frequência de cães reagentes à imunodifusão em gel de ágar para Brucelose Canina, segundo a idade, < 24 e ≥ 24 meses, em Belo Horizonte - MG, no período de dezembro de 1999 a junho de 2000.

Idade (meses)	IDGA ¹ Animais reagentes (%)	Total
< 24	6 (0,8)	143
≥ 24	32 (4,0)	641
Total	38 (4,8)	784

1-IDGA: Imunodifusão em gel de ágar para Brucelose Canina

2- $\chi^2=0,16$ gl=1 P=0,688

As informações sobre a raça dos animais estavam presentes em 1140 fichas. Destes 1140 animais, 48 foram reagentes à IDGA para Brucelose Canina. A distribuição racial dos animais reagentes se encontram na Tabela 3 e Anexo I. A Figura 1 mostra a composição percentual das principais raças na população estudada.

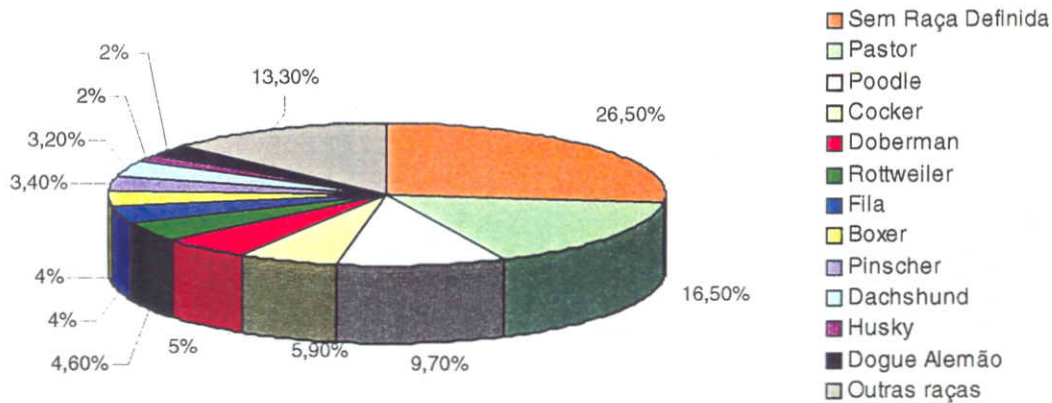


Figura 1. Frequência de raças na população canina estudada em Belo Horizonte, MG, no período de dezembro de 1999 a junho de 2000.

Não houve associação entre raça e animais reagentes à IDGA para Brucelose Canina ($\chi^2=16,8$, gl=12, P>0,05) na população estudada, nem mesmo quando a análise foi realizada com as três raças mais

freqüentes, SRD, Pastor e Poodle, e as outras raças agrupadas ($\chi^2=2,56$, gl=3, P=0,464).

Tabela 3. Frequência de cães reagentes à imunodifusão em gel de ágar para Brucelose Canina, segundo a raça, em Belo Horizonte - MG, no período de dezembro de 1999 a junho de 2000.

Raça	IDGA ¹	
	Animais reagentes (%)	Total (%)
SRD ²	12 (3,9)	305 (26,5)
Pastor	7 (3,7)	188 (16,5)
Poodle	2 (1,8)	109 (9,7)
Cocker	4 (5,9)	67 (5,9)
Doberman	0 (0,0)	58 (5,1)
Rottweiler	5 (9,4)	53 (4,6)
Fila	0 (0,0)	43 (3,8)
Boxer	4 (10,0)	40 (3,5)
Pinscher	2 (5,1)	39 (3,4)
Dachshund	1 (2,7)	37 (3,2)
Husky	2 (8,0)	25 (2,2)
Dogue Alemão	0 (0,0)	24 (2,1)
Outras Raças	9 (5,9)	152 (13,3)
Total	48 (4,2)	1140 (100,0)

1-IDGA: Imunodifusão em gel de ágar para Brucelose Canina

2-SRD: sem raça definida

3- $\chi^2=16,8$, gl=12, P > 0,05

De acordo com o endereço contido nas fichas, os animais provieram das nove administrações regionais da cidade de Belo Horizonte (PREFEITURA..., 2001). Os dados das 1368 fichas foram analisados e os resultados da IDGA para Brucelose Canina, em função das regionais da cidade de Belo Horizonte, são apresentados na Tabela 4. Não houve diferença estatística na prevalência de cães reagentes entre as regionais, nem mesmo, em uma segunda análise, com a exclusão da regional Barreiro, representada por apenas 15 animais ($\chi^2=6,68$, gl=7, P=0,463).

Tabela 4. Prevalência de cães reagentes à imunodifusão em gel de ágar para Brucelose Canina, segundo as Administrações Regionais, em Belo Horizonte - MG, no período de dezembro de 1999 a junho de 2000.

Regional	IDGA ¹		Prevalência (IC)
	Animais reagentes	Total (%)	
Barreiro	0	15 (1,1)	-
Centro-Sul	14	251 (18,3)	5,6% (2,7%-8,4%)
Leste	13	306 (22,4)	4,3% (2,0%-6,5%)
Nordeste	11	140 (10,2)	7,9% (3,4%-12,3%)
Noroeste	7	169 (12,4)	4,1% (1,1%-7,1%)
Norte	1	83 (6,1)	1,2% (0%-3,5%)
Oeste	7	113 (8,2)	6,2% (1,8%-10,6%)
Pampulha	7	173 (12,6)	4,1% (1,1%-7,0%)
Venda Nova	5	118 (8,6)	4,2% (0,6%-7,9%)
Total	65	1368 (100,0)	4,8 % (3,6%-5,9%)

1-IDGA: Imunodifusão em gel de ágar para Brucelose Canina

2- $\chi^2=16,8$, gl=12, P > 0,05

5 DISCUSSÃO

A prevalência de infecção por *Brucella canis* em cães na cidade de Belo Horizonte foi próxima a de outras áreas urbanas, conforme investigações realizadas por Fredrickson & Barton (1974) em Nashville, nos Estados Unidos da América, Godoy et al. (1977) em Belo Horizonte - Brasil, Serikawa et al. (1977) em Gifu e Shiga no Japão, Germano et al. (1988) em Campinas - Brasil, Pillai et al. (1991) em Madras - Índia, e abaixo daquelas detectadas por Wald & Fernandes (1976) em Porto Alegre - Brasil, Zamora & Martín (1980) em Valdivia - Chile, Melo et al. (1998) no distrito de Monte Gordo - Camaçari, Brasil e Maia et al. (1999) nas cidades do Rio de Janeiro e Niterói - Brasil.

Neste estudo foi empregada a prova da IDGA, por ser uma técnica muito sensível e mais específica de acordo com a literatura pesquisada, como também pela disponibilidade comercial do "kit" com antígeno para diagnóstico de *Brucella ovis*. Este antígeno é utilizado no diagnóstico de *Brucella canis*, devido à identidade antigênica entre ambas espécies de *Brucella* (Myers et al, 1974), observada em testes de imunodifusão.

A prevalência de 4,8% de cães reagentes à prova de IDGA para Brucelose Canina encontrada nesta pesquisa pode ter diferido de outros relatos presentes na literatura devido as características dos testes sorológicos empregados, ao desenho amostral e as diferenças entre as populações estudadas (Wald & Fernandes, 1976).

Com relação ao sexo da população canina investigada, a não diferença significativa entre frequência dos animais reagentes à prova de IDGA para Brucelose Canina foi condizente com aqueles encontrados por Serikawa et al. (1977) em Gifu e Shiga, no Japão, Germano et al. (1988) em Campinas, no Brasil e Srinivasan et al. (1992) em Madras, Índia, que relatam em seus estudos que machos e fêmeas são igualmente susceptíveis à *Brucella canis*.

Não obstante, o macho infectado dissemina *Brucella canis* em época de acasalamento, ao cobrir várias fêmeas em lugares diferentes, ou quando usado como reprodutor em canis, principalmente por ser animal fértil por toda vida, ao passo que a fêmea permanece fértil de uma a três semanas no ano (Feldman & Nelson, 1987).

A Brucelose Canina não é zoonose de primeira linha. Sua importância esta nas expressivas perdas econômicas, principalmente para criadores em canis comerciais de reprodução ou comerciantes de animais, por apresentarem problemas de falhas reprodutiva. Outro aspecto a ser considerado se refere a população canina sem domicílio. Concentrados nas cidades, os cães portadores da infecção, a transmitem para outros na época de acasalamento (Acha & Szyfres, 1989; Carmichael & Shin, 1996).

Neste estudo, a população canina investigada foi composta por animais de várias idades e diversas raças, não sendo adotada classificação em animais de pequeno ou grande porte. A idade foi analisada em duas faixas etárias: menor que 24 meses e igual ou maior a 24 meses. A escolha destas faixas etárias abrange a idade de cruzamento dos cães, que varia de dois a seis anos (Feldman & Nelson, 1987).

De acordo com o resultado geral referente a análise da idade, fica evidenciado que cães de qualquer idade são susceptíveis à *Brucella canis*. Relato condizente com o encontrado por Hubbert et al. (1980) em Baton Rouge, Estados Unidos da América e Germano et al. (1988) em Campinas, Brasil.

Com relação a análise da idade, Hubbert et al. (1980) verificaram que a maioria dos animais que se encontravam com 24 meses de idade ou mais foram reagentes para Brucelose Canina. Germano et al. (1988) relatam que a maioria dos cães reagentes à Brucelose Canina correspondiam a faixa etária entre 18 e 54 meses de idade. A ausência de dados mais confiáveis dificulta maior discussão deste tópico.

Quanto à caracterização racial dos animais na população estudada predominaram cães SRD, concordando com o encontrado em estudos realizados por Mills & Nielsen (1967), Robinson (1967), Ribeiro (1988) e Alves (1996). Entre os cães de raça definida predominaram os pastores e poodles que representavam 26,2% dos animais.

Robinson (1967) realizou um estudo no qual observou que entre as dez raças definidas predominantes estavam incluídos pastores e poodles. No estudo realizado por Schneider & Vaida (1975) houve também predomínio destas duas raças.

De acordo com relatos na literatura, qualquer raça é susceptível a infecção por *Brucella canis*. Este fato é comprovado no presente trabalho, sendo observada a presença de infecção pela *Brucella canis* em cães SRD, maioria da população canina investigada, seguida das raças mais freqüentes, respectivamente, pastor, poodle, cocker, rottweiler, boxer, pinscher, dachshund e husky. A expressão SRD - sem raça definida - neste trabalho e para efeitos práticos corresponde a determinada categoria racial.

A prevalência encontrada em cada administração regional não apresentou diferença significativa. Isto sugere que os mesmos fatores de risco da infecção estão presentes nas diferentes administrações regionais. O resultado encontrado condiz com aqueles relatados por Cortes et al. (1988) que ao investigarem presença de *Brucella canis* em quatro regionais na cidade de São Paulo encontraram prevalências próximas entre si.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, não correlacionando a sintomatologia da doença, permitiram chegar às seguintes conclusões:

- A prevalência da infecção pela *Brucella canis* na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais, de 4,8% obtida pela prova de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), na amostra estudada é considerada baixa;

- Sexo, idade e raça não influenciaram, significativamente, na prevalência da infecção pela *Brucella canis* na população estudada;
- A variação na procedência dos animais, todos do nicho ecológico de Belo Horizonte, Minas Gerais, não interferiu de modo significante com a prevalência da doença.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Brucellosis. In: _____ *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. 2. Ed. Washington: Organización Panamericana de la salud, 1989. 989p. (Publicación científica n. 503)

ALTON, G. G.; JONES, L. M.; ANGUS, R. D. et al. *Techniques for the brucellosis laboratory*. Paris: INRA, 1988. 190p.

ALVES, P. A. B. *Perfil epidemiológico da população canina atendida em hospitais veterinários de Belo Horizonte – MG, 1987 a 1994*. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1996. 124p. Dissertação (Mestrado).

BERTHELOT, X.; GARIN-BASTUJI, B. T. Brucellosis canines. *Le Point Veterinaire*, v.25, n.152, p. 33-37, 1993.

BOEBEL, F. W.; EHRENFORD, F. A.; BROWN, G. M. et al. Agglutinins to *Brucella canis* in stray dogs from certain counties in Illinois and Wisconsin. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 175, n.3, p. 276-277, 1979.

CARMICHAEL, L. E. Abortion in 200 beagles (New Report). *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 149, n. 15, p. 1126, 1966.

CARMICHAEL, L. E.; KENNEY, R. M. Canine Brucellosis: The Clinical disease, Pathogenesis, and Immune Response. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 156, n. 12, p. 1726-1734, 1970.

- CARMICHAEL, L. E. Canine Brucellosis: an annotated review(a) with selected cautionary comments. *Theriogenology*, v. 6, n. 2-3, p. 105-116, 1976.
- CARMICHAEL, L. E.; JOUBERT, J. C. Transmission of *Brucella canis* by contact exposure. *Cornell Veterinarian*, v. 78, n. 1, p. 63-73, 1988.
- CARMICHAEL, L. E.; GREENE, C. E. Canine brucellosis. In: GREENE, C. E. *Infectious disease of the dog and cat*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1990. p. 573-584.
- CARMICHAEL, L. E.; SHIN, S. J. Canine brucellosis: a diagnostician's dilemma. *Seminars in veterinary medicine and surgery (Small Animal)*, v. 11, n. 3, p. 161-165, 1996.
- CORREA, W. M.; CORREA, C. N. M. Bruceloses. In: _____. *Enfermidades infecciosas dos animais domésticos*. 2. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p. 195-264.
- CORTES, V. A.; OLIVEIRA, M. C.; ITO, F. H. et al. Reações sorológicas para *Brucella canis* em cães errantes capturados na proximidade dos parques públicos, reservas florestais e em áreas periféricas do Município de São Paulo – Brasil. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo*, v.25, n.1, p. 101-107, 1988.
- CURRIER, R. W.; RAITHEL, W. F.; MARTIN, R. J. et al. Canine Brucellosis. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 180, n. 2, p. 132-133, 1982.
- DEAN, A. G.; DEAN, J. A.; BURTON, A. H. et al. *EPI INFO*, version 6.02b: a word processing, database and statistics program for epidemiology on micro-computers. Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia, 1995.
- FELDMAN, E. C.; NELSON, R. W. Canine female reproduction. In: _____. *Canine and feline endocrinology and reproduction*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1987. p. 399-475.
- FLORES-CASTRO, R.; SEGURA, R. A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in Mexico. *Cornell Veterinary*, v.66, n. 1, p.347-352, 1976.
- FREDRICKSON, L. E.; BARTON, C. E. A serologic survey for canine brucellosis in a metropolitan area. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 165, n.11, p. 987-988, 1974.
- GERMANO, P. M. L.; VASCONCELOS, S. A.; ISHIZUKA, M. M. et al. Prevalência de infecção por *Brucella canis* em cães da cidade de Campinas – SP, Brasil. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo*, v. 24, n. 1, p. 27-34, 1987.
- GODOY, A. M.; PERES, J. N.; BARG, L. Isolamento de *Brucella canis* em Minas Gerais, Brasil. *Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG*, v. 29, n.1, p. 35-42, 1977.
- GOMES, M. J. P.; DRIEMEIER, D.; SOARES, H. C. et al. *Brucella canis*: isolamento em um cão com epididimite e orquite – relato de caso. *Clinica Veterinária*, ano 4, n. 18, p. 17-20, 1999.
- GREENE, C. E.; GEORGE, L. W. Canine brucellosis. In: GREENE, C. E. *Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1984. p. 647-662.
- HOFF, G. L.; NICHOLS, J. B. Canine brucellosis in Florida: serologic survey of pound dogs, animal shelter workers and veterinarians. *American Journal of Epidemiology*, v. 100, n.1, p. 35-39, 1974.
- HUBBERT, N. L.; BECH-NIELSON, S.; BARTA, O. Canine brucellosis: comparison of clinical manifestations with serologic test results. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 177, n. 2, p. 168-171, 1980.
- JOHNSON, C. A.; WALKER, R. D. Clinical signs and diagnosis of *Brucella canis*. *Small Animal*, v. 14, n.6, p. 763-773, 1992.

- KATAMI, M.; SATO, H.; YOSHIMURA, Y. et al. An Epidemiological survey of *Brucella canis* infection of dogs in the Towada area of Aomori prefecture. *Journal Veterinaire Medicine Science*, v. 53, n.6, p. 1113-1115, 1991.
- KRUEDENER, R. B. VON. Isolierung und Bestimmung von *Brucella canis* aus einem Beaglebestand. *Zentralblatt fur Veterinärmedizin*, v. 21, n.4, p. 307-310, 1974.
- LARSSON, M. H. M. A.; LARSSON, C. E.; MIRANDOLA, R. M. S. et al. Canine brucellosis in São Paulo: serologic survey of kennel and stray dogs. *International Journal of Zoonoses*, v. 8, n. 1, p. 85-90, 1981.
- LARSSON, M. H. M. A.; LARSSON, C. E.; FERNANDES, W. R. et al. *Brucella canis*. Inquéritos sorológico e bacteriológico em população felina. *Revista Saúde Pública*, v. 18, n. 1, p. 47-50, 1984.
- LOVEJOY, G. S.; CARVER, H. D.; MOSELEY, I. K. et al. Serosurvey of dogs for *Brucella canis* infection in Memphis, Tennessee. *American Journal Public Health*, v.66, n.2, p. 175-176, 1976.
- MAIA, G. R.; ROSSI, C. R. S.; ABBADIA, F. 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.
- MATEU-DE-ANTONIO, E. M.; MARTÍN, M.; SOLER, M. Use of indirect enzyme-linked immunosorbent assay with hot saline solution extracts of a variant (M-) strain of *Brucella canis* for diagnosis of brucellosis in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, v. 54, n. 7, p.1043-1046, 1993.
- MATEU-DE-ANTONIO, E. M.; DELGADO, S.; MARTÍN, M. et al. L'infection à *Brucella* chez le chien en Espagne. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, v. 174, n. 1-2, p. 6-10, 1998.
- MELO, S. M. B.; AGUIAR, P. H. P.; NASCIMENTO, R. M. et al. Avaliação sorológica por imunodifusão em gel de ágar para diagnóstico de *Brucella canis* em cães no distrito de Monte Gordo – Camaçari – Bahia. *Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da UFBA*, v. 19, n.1, p. 119-127, 1998.
- MILLS, J. H. L.; NIELSEN, S. W. Age, breed and Sex distribution in Connecticut dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 151, n.8, p. 1079-1083, 1967.
- MOORE, J. A.; GUPTA, B. N. Epizootiology, diagnosis and control of *Brucella canis*. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 156, n. 12, p. 1737-1740, 1970.
- MYERS, D. M.; VARELA-DÍAZ, V. M.; COLTORTI, E. A. Comparative sensitivity of gel-diffusion and tube agglutination tests for the detection of *Brucella canis* antibodies in experimentally infected dogs. *Applied Microbiology*, v. 28, n. 1, p. 1-4, 1974.
- MYERS, D. M.; VARELA-DÍAZ, V. M. Serological and bacteriological detection of *Brucella canis* infection of dogs in Moreno, Argentina. *Cornell Veterinary*, v. 70, n. 1, p. 258-265, 1980.
- NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; FRANKENA, K.; VAN DER HOOFD, C. M. et al. *Application of quantitative methods in veterinary epidemiology*. Wageningen: Wageningen Pers, 1997. 445p.
- PERES, J. N.; GODOY, A. M.; BARG, L. et al. Isolamento de *Brucella canis* de carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*). *Arquivo de Escola de Veterinária da UFMG*, v.33, n.1, p. 51-55, 1981.
- PILET, C.; QUINTIN-COLONNA, F. La brucellose du chien a *Brucella canis*. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, v. 154, n.6, p.615-620, 1978.

- PILLAI, M. T.; NEDUNCHELLIYAN, S.; RAGHAVAN, N. Serological and bacteriological detection of *Brucella canis* infection of dogs in Madras. *Indian Veterinary Journal*, v. 68, n.5, p. 399-401, 1991.
- PREFEITURA Belo Horizonte. MAPAS. Disponível em: <<http://www.pbh.gov.br/mapas/mapaindex.htm>> acesso em: 18 Jan. 2001.
- RIBEIRO, V. M. *Perfil nosológico e algumas características de cães atendidos em clínicas veterinárias de Belo Horizonte, 1985/86*. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1988. 56 p. Dissertação (Mestrado).
- ROBINSON, G. W. Characterization of several canine population by age, breed and sex. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 151, n. 8, p. 1072-1078, 1967.
- ROJAS, R. A. Algumas zoonosis. In: _____. *Epidemiologia*. Buenos Aires: Intermédica, 1976. v. 2, p. 369-384.
- SANDOVAL, L. A.; RIBEIRO, L. O. C.; AMARAL, L. B. S. et al. Incidência de brucelose canina na cidade de São Paulo. *O Biológico*, v.42, n. 5-6, p. 128-132, 1976.
- SCHLEMPER, S. R. M.; VAZ, A. K. Inquérito sorológico para brucelose canina por *Brucella canis* na região do planalto catarinense, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.12 (único), p.8-12, 1990.
- SCHNEIDER, R.; VAIDA, M. L. Survey of canine and feline populations: Alameda and Contra Costa Counties, California, 1970. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 166, n. 5, p. 481-486, 1975.
- SERIKAWA, T.; MURAGUCHI, T.; NAKAO, N. A survey of dogs from Gifu and Shiga area for *Brucella canis*. *Japanese Journal Veterinary Science*, v.39, n. 6, 635-642, 1977.
- SIEGEL, S. *Estatística não paramétrica*. São Paulo: McGraw-Hill, 1975. p. 106-178.
- SILVA, J. A. *Características da população canina e felina de Belo Horizonte, Minas Gerais – Brasil*. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1980. 29p. Dissertação (Mestrado).
- SRINIVASAN, V. K.; NEDUNCHELLIYAN, S.; VENKATARAMAN, K. K. Seroepidemiology of canine brucellosis in Madras city. *Indian Veterinary Journal*, v. 69, n. 11, p. 978-980, 1992.
- TAYLOR, D. J. Serological evidence for the presence of *Brucella canis* infection in dogs in Britain. *Veterinary Record*, v. 106, n. 5, p. 102-104, 1980.
- UEDA, K.; SAEGUSA, J.; FUJIWARA, K. et al. Detection of *Brucella canis* infection in dogs from Tokyo area. *Japanese Journal Veterinary Science*, v.36, n. 6, p. 539-542, 1974.
- VARGAS, A. C.; LAZZARI, A.; DUTRA, V. et al. *Brucelose canina: relato de caso*. *Ciência Rural*, v. 26, n.2, p. 305-308, 1996.
- WADA, T.; HANDA, S.; MOHRI, S. Serological survey on agglutinins to *Brucella canis* in dogs of the Kyushu district. *Japanese Journal Veterinary Science*, v. 41, n. 3, p. 339-341, 1979.
- WALD, V. B.; FERNANDES, J. C. T. Sorologia da brucelose canina no município de Porto Alegre, RS. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*, v. 4, p. 92-95, 1976.
- WEBER, A.; SCHLIESSER, T. Untersuchungen zum vorkommen von Antikörpern gegen *Brucella canis* bei Haushunden in der Bundesrepublik Deutschland. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, v. 91, n. 2, p. 28-30, 1978.
- ZAMORA, J.; ALONSO, O.; MARTIN, R. Brucelosis canina en Valdivia, Chile. *Zentralblatt für Veterinärmedizin*, v. 27, n. 2, p. 149-153, 1980.

ANEXO I

Frequência de cães reagentes à imunodifusão em gel de ágar para Brucelose Canina, segundo a raça em Belo Horizonte - MG, no período de dezembro de 1999 a junho de 2000.

Raça	Animais positivos	Total
Afghan Hound	0	02
Airedale Terrier	0	01
Akita	1	16
Basset	0	08
Beagle	0	16
Bichon	0	09
Bouvier des Flandes	0	01
Boxer	4	40
Bulldog	0	02
Chihuahua	0	01
Chow Chow	0	01
Cocker	4	67
Collie	0	02
Dachshund	1	37
Dálmata	2	08
Doberman	0	58
Dogue Alemão	0	24
Fila	0	43
Fox	0	10
Greyhound	0	01
Husky	2	25
Labrador	2	13
Lhasa Apso	0	02
Maltês	0	01
Mastim Napolitano	0	03
Old English Sheepdog	0	04
Pastor	7	188
Pequinês	0	02
Pinscher	2	39
Pit Bull	0	05
Pointer	0	03
Poodle	2	109
Retriever	0	01
Rottweiler	5	53
São Bernardo	0	04
Schnauzer	0	05
Setter	2	12
Shar-pei	0	01
Shiba	0	01
SRD	12	305
Weimaraner	1	07
Whippet	0	02
Yorkshire	1	08
Total	48	1140

ANEXO II

Censo Canino por Distrito Sanitário Belo Horizonte – 2000

Distritos Sanitários	Nº de Animais	População Humana**	Relação Homem/Cão
Barreiro	37089	237046	6
Centro - Sul (*)	15002	256661	17
Leste	33609	243302	7
Nordeste	33734	251126	7
Noroeste	36869	336230	9
Norte	28188	175604	6
Oeste	25061	252354	10
Pampulha	21062	120865	5,7
Venda Nova	37658	218192	6
Total Geral	268272	2091380	8

Fonte: svczoonoses/Distritos Sanitários SMSA/PBH

(*) O Distrito Sanitário Centro - Sul realizou o último censo em 1999.

(**) Contagem populacional de 1996/IBGE.