



BRUCELOSE CANINA: Uma Enfermidade Emergente

Canine Brucellosis: An Emerging Disease

Ana Laura Bitencourt Machado¹, ORCID: 0009-0001-1784-8900

RESUMO

A brucelose canina é uma enfermidade infectocontagiosa, causada pela *Brucella canis*, descoberta por Carmichael em 1966. As bactérias *B. canis* são gram-negativas, imóveis, coccobacilares, com medidas entre 1,0 e 1,5 µm, intracelulares facultativas, aeróbias, de superfície rugosa e não formadoras de esporos. Essa bactéria está presente em diferentes países ao redor do mundo, incluindo o Brasil, e sua disseminação ocorre com facilidade. A resistência adquirida à infecção por *Brucella* depende principalmente da imunidade celular, já que está associada à ativação dos macrófagos, mas a imunidade humoral também desempenha um papel importante. Os anticorpos oferecem proteção apenas parcial e são dirigidos, principalmente, contra o lipopolissacarídeo (LPS). Existem diversos métodos diagnósticos para a doença, cada um com suas particularidades. No entanto, o diagnóstico confirmatório é possível apenas com o isolamento e a identificação da bactéria, embora um resultado negativo não seja suficiente para excluir a presença do patógeno, pois diversos fatores podem interferir no teste. É necessário obter mais informações sobre a doença, pois, apesar de não apresentar um alto potencial patogênico, demonstra uma capacidade significativa de infecção, inclusive em humanos.

Palavras-chave: Zoonose, *Brucella canis*, infecção, LPS, bactéria.

ABSTRACT

Canine brucellosis is an infectious disease caused by *Brucella canis*, discovered by Carmichael in 1966. *B. canis* bacteria are gram-negative, immobile, coccobacillary, measuring between 1.0 and 1.5µm, facultative intracellular, aerobic, with a rough surface and non-spore forming. The bacteria is present in different countries around the world, including Brazil, and is easily spread. Resistance to *Brucella* infection is mainly involved in cellular immunity, as it depends on the activation of macrophages, but also on humoral immunity. Antibodies provide only partial protection and are mainly directed against lipopolysaccharide (LPS). There are several diagnostic methods for the disease, with their respective particularities. However, confirmatory diagnosis is only possible with isolation and identification of the bacteria, even though a negative result cannot confirm the absence of the pathogen, as several factors may interfere. It is necessary to obtain more data regarding the disease, as although it does not yet have great pathogenic potential, it has a clear capacity for infection, including in humans.

Keywords: Zoonosis, *Brucella canis*, infection, LPS, bacteria.

¹Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Centro de Ciências Agrárias e Biológicas, Curso de Medicina Veterinária, Cruz das Almas, Bahia, Brasil. E-mail: mv.alaurabm@gmail.com.



INTRODUÇÃO

A brucelose canina é uma doença infectocontagiosa, de notificação não obrigatória para a Organização Mundial de Saúde Animal (The World Organisation for Animal Health - WOAH), o que acarreta negativamente na notificação dos casos positivos e, portanto, na obtenção de dados verídicos. (DJOKIC, Vitomir, et al.; 2023a). Devido à falta de vigilância constante a respeito dessa enfermidade, pode-se considerar constante a mudança das barreiras geográficas (Cosford, Kevin L; 2018).

O agente principal envolvido na manutenção da doença é a *Brucella canis*, entretanto, existem relatos de infecção por *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* e *Brucella suis* (Greene; Carmichael, 2015). A *B. canis* é uma bactéria gram-negativa, que possui característica morfológica rugosa, aeróbica, sem cápsula, imóvel, com formato de cocobacilo, não formadora de esporos e intracelular obrigatória (Whatmore, 2009). Quando comparado a outras *Brucella spp.*, a *B. canis* induz menos inflamação e lesões mais insidiosas (Chacón-Díaz, et al.; 2015), fator que pode ser explicado por ser desprovida do antígeno somático O, indicando parede celular reduzida, e com pouca endotoxina (Morisset et al.; 1969).

Atualizações sobre o estudo da brucelose canina destacam a importância dessa doença no seu reconhecimento como antropozoonose. Embora sua patogenicidade não seja tão alta ou preocupante em comparação com outras cepas de brucelose, ela representa um potencial zoonótico claro e estabelecido. Esse risco é especialmente relevante devido à íntima relação entre cães e humanos, agravando-se em pessoas com sistema imunológico debilitado, como no caso de uma mulher de 46 anos portadora de HIV (Lawaczek, E. et al., 2021), ou em indivíduos com sistema imunológico em formação, como uma criança de 3 anos (Dentinger, C. M., 2015).

O levantamento da brucelose canina é importante para melhorar o entendimento da doença, considerando a necessidade de maior coleta de informações, principalmente para a produção de ferramentas diagnósticas. Trabalhos como este contribuem para essa coleta, além de possibilitar a obtenção de dados sobre a realidade de alguns bairros do município de Cruz das Almas, Bahia.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo consiste em uma pesquisa bibliográfica para análise, comparação e compilação de informações sobre *Brucella canis*, com enfoque na área diagnóstica, em diversos repositórios

acadêmicos, como, por exemplo, o PubMed, SciELO, e sites de organizações, além das páginas de universidades responsáveis por Trabalhos de Conclusão de Curso, Dissertações e Teses. Foram utilizadas, entre outras, as seguintes palavras-chave: *Brucella Canis*, Canina, brucelose e testes.

REVISÃO DE LITERATURA

Contexto Histórico Da *Brucella Canis*

Segundo Kevin L. Cosford (2018), a *Brucella canis* foi descrita pela primeira vez em 1966, nos EUA, por Carmichael, quando foi associada a casos de aborto em beagles. Esse patógeno foi isolado a partir de tecidos abortados e do corrimento vaginal. Por esse motivo, Faig E.L. (1969) sugeriu chamar a brucelose canina de "febre dos beagles". Há também relatos da presença da bactéria em Quebec, na década de 1970, e no sudoeste de Ontário, na década de 1980.

Inicialmente, devido a semelhanças genotípicas e fenotípicas, uma vez que compartilham um ancestral comum, a *B. canis* foi considerada um biótipo da *Brucella suis* (Moreno, Edgardo; Cloeckart, Axel; Moriyón, Ignacio, 2002). Para diferenciar as duas cepas, foi necessário otimizar uma reação em cadeia da polimerase convencional multiplex (PCR) (Goñi-López, Ignacio, et al., 2011).

Na América Latina, especificamente no Brasil, a primeira descrição ocorreu no estado de Minas Gerais, em 1977, por Godoy et al., que isolaram a bactéria de uma cadela com histórico de abortamento e reagente à prova de soroprecipitação lenta (SAL). Em 1980, Larsson et al. isolaram, em São Paulo, três amostras de *B. canis*, sendo que uma delas foi isolada de uma fêmea com histórico de infertilidade, outra de uma fêmea assintomática e a última de um macho assintomático. Posteriormente, em 1996, na cidade de Santa Maria, Vargas et al. isolaram *B. canis* da placenta de neonatos e fetos abortados em um canil com reprodutores caninos de diversas origens. Já em Porto Alegre, em 1999, Gomes et al. isolaram *B. canis* do epidídimo e testículo de um cão com orquite clínica e epididimite.

Agente Etiológico, Características Morfológicas e Antigênicas

As bactérias do gênero *Brucella* são divididas em dois grupos, rugosas e lisas, devido às suas características antigênicas distintas. Essa classificação baseia-se na constituição do lipopolissacarídeo (LPS) da parede celular da bactéria. Nas espécies rugosas, o LPS contém apenas lipídeo A e o núcleo de oligossacarídeo, enquanto nas espécies lisas, o LPS inclui lipídeo A, núcleo de oligossacarídeo e a cadeia O (Corbel, 1997).



Um dos fatores determinantes na virulência da bactéria é o LPS (Cardoso et al., 2006), especificamente a cadeia O presente nele, uma vez que essa estrutura pode proteger a bactéria da resposta imune, como discutido por J.A. Smith (2018). A cadeia O interage com jangadas lipídicas na superfície dos macrófagos, permitindo que as bactérias entrem na célula. Já as cepas de *Brucella* com R-LPS, como a *B. canis*, não interagem com jangadas lipídicas e conectam-se rapidamente aos lisossomos (Lapaque et al., 2005).

A estrutura mais característica das bactérias gram-negativas é o seu envelope celular, formado por uma membrana citoplasmática, um espaço periplasmático rico em proteínas solúveis intermediárias e uma membrana externa (Moriyon et al., 2002).

As bactérias do gênero *Brucella* apresentam formato cocobacilar, com dimensões entre 1,0 e 1,5 μm . São intracelulares facultativas, aeróbicas, gram-negativas, imóveis, não formadoras de esporos, e a *B. canis* possui superfície rugosa, além de ter como característica peculiar a capacidade de formar colônias de aspecto mucoide (Greene; Carmichael, 2015; Keid, 2015; Carmichael; Kenny, 1970).

Exemplos de colônias lisas, de acordo com as características químicas da parede celular, incluem *Brucella abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*. Por outro lado, colônias rugosas incluem *B. ovis* e *B. canis* (BRASIL, 2006). Enquanto isso, a *B. neotomae* é descrita como outro exemplo de bactéria com LPS (lipopolissacarídeo) liso, conforme Waldrop S.G. e Sriranganathan N. (2019).

A caracterização da genética molecular do gênero *Brucella* ocorreu quase exclusivamente durante a década de 1990. O gênero, por sua natureza, é extremamente homogêneo, com todos os membros apresentando uma homologia superior a 95%. A partir de estudos de hibridização DNA-DNA realizados por Verger et al. (1985) com 51 cepas de *Brucella* de todas as espécies, esse gênero foi considerado monoespecífico (Dees et al., 1981; Correa; Correa, 1992).

Somente canídeos domésticos e selvagens apresentam suscetibilidade à infecção pela *B. canis*. Por outro lado, felinos são relativamente resistentes, com relatos limitados a infecções experimentais, nas quais apresentam bacteremia transitória (Greene; Carmichael, 2015; Keid, 2015). Ainda que haja preferência das cepas de *B. canis* por infectar canídeos, *B. abortus* por bovinos, *B. suis* por suínos, *B. ovis* por ovinos e *B. melitensis* por caprinos, pode ocorrer contaminação cruzada. É importante ressaltar que a *B. melitensis* é exótica no Brasil (Poester et al., 2002).

Quatro das seis espécies mais clássicas de *Brucella* podem infectar cães e humanos, sendo, portanto, uma zoonose. Estas são: *B. canis*, *B. melitensis*, *B. suis* e *B. abortus* (Carmichael, L.E.; Greene, C.E.; Hollett, R.B., 2006). Segundo Kevin L. Cosford (2018), as duas espécies restantes das clássicas de *Brucella*, *B. neotomae*, associada a roedores e ratos do deserto, e

B. ovis, encontrada em ovelhas, não estão associadas a doenças em cães.

Adicionalmente, outras espécies, como as formas terrestres (*B. microti*, *B. inopinata*) e as formas marinhas (*B. maris*, *B. pinnipediae*, *B. ceti*), apresentam patogenicidade incerta para cães.

Condições adequadas de umidade e temperatura tornam as *Brucella* spp. viáveis no solo, leite, água e urina por mais de 10 semanas. No entanto, essas bactérias são sensíveis e podem ser inativadas por desinfetantes comuns, luz e calor. Elas sobrevivem ao congelamento e descongelamento, e o principal meio de transmissão é o contato com produtos de abortamento e secreções vaginais (Hollett, R.B., 2006). As bactérias também podem permanecer viáveis por até dois meses em cadáveres ou tecidos contaminados enterrados (Greene; Carmichael, 2015).

As bactérias do gênero *Brucella*, incluindo a *B. canis*, têm predileção pelos tratos reprodutivos feminino e masculino em animais sexualmente maduros. Esse tropismo é atribuído à afinidade do microrganismo por tecidos produtores de esteroides. Entretanto, também pode ocorrer sua instalação em outros órgãos, como os olhos, medula espinhal, fígado, baço e linfonodos (Makloski, 2011).

Epidemiologia

Demonstrou-se a presença de *B. canis* em diversos países do mundo a partir do isolamento do agente etiológico ou, ainda, pela suspeita baseada na resposta sorológica. Na Ásia e no sul dos EUA, a brucelose canina tem sido relatada como endêmica, assim como na América Central e do Sul (Me, Hensel; M, Negron; AM, Arenas-Gamboa, 2018), incluindo o Brasil, que possui uma alta população de cães (Keid, L. B. et al., 2017). Na Europa, a *Brucella canis* está se tornando a principal causa de brucelose canina; entretanto, os relatórios refletem amplamente a ocorrência de sinais e sintomas em cães e humanos.

O caráter zoonótico da infecção foi identificado em 1969, quando os primeiros registros ocorreram devido a acidentes em laboratórios (Morisset e Spink, 1969). Atualmente, a ausência de programas de vigilância e a escassez de dados impedem a compreensão exata de quais países podem ser considerados endêmicos para a doença (Djokic, Vitomir, et al., 2023).

Não existe predileção por raça, idade ou sexo, sendo que fêmeas e machos são igualmente acometidos pela doença (Germano et al., 1987; Moraes et al., 2002; Azevedo et al., 2003). A estação do ano e o clima não influenciam na apresentação da doença (Corrêa; Corrêa, 1992). A alta incidência de surtos bem documentados em cães beagles pode estar relacionada ao amplo uso da raça para fins de pesquisa (Spink, W.W.; Morisset, R., 1970).

A infecção causada por *B. canis* é mais comum entre cães vadios, cães de abrigos ou de canis de criação comercial (Carmichael, L.E.; Joubert, J.C., 1988), apresentando frequências mais altas entre cães vadios do que entre os com tutoria responsável



(Lovejoy, G.S., et al., 1976), provavelmente devido à ausência de controle no acasalamento (Santos, Renato L., et al., 2021). A doença, quando introduzida em um canil, espalha-se rapidamente (Carmichael, L.E.; Joubert, J.C., 1988; Ferreira, Vicente A., et al., 2020).

Azevedo et al. (2003) concluíram que, após analisar se a faixa etária poderia ser um fator de risco associado à soropositividade para *B. canis*, animais impúberes e sexualmente maduros estão igualmente expostos ao risco de infecção. No entanto, animais impúberes, caso adquiram a infecção, tornam-se abacterêmicos, normalmente desenvolvendo linfadenopatia uni ou bilateral. Após a puberdade, esses animais podem manifestar sinais clínicos reprodutivos.

Via de Eliminação

Nas fêmeas, pode ocorrer excreção pelo leite, ainda que em pequena concentração e com pouca importância na infecção dos filhotes, já que normalmente há contaminação intrauterina (Carmichael; Greene, 1998).

Nos machos, a eliminação pelo sêmen é resultante da presença de bactérias na próstata e no epidídimo. Nas primeiras seis a oito semanas após a infecção, a quantidade desses microrganismos é considerada alta. No entanto, constatou-se a eliminação em baixa concentração por até 60 semanas pós-infecção, podendo se estender até dois anos (Carmichael; Greene, 1993; Johnson; Walker, 1992). Nas infecções agudas, a urina pode conter cerca de 10^3 a 10^6 *Brucella canis*/ml (Suzuki, Erika Yuri et al., 2008).

A comparação da urina das fêmeas e dos machos sugere que a quantidade isolada nas fêmeas é menor do que nos machos. Uma explicação para tal fato seria a anatomia do macho, pela estreita relação entre a próstata, o epidídimo e a vesícula urinária. Entretanto, apesar do risco de transmissão pela urina ser maior nos machos, ambos os sexos são potencialmente infectantes quando há contato prolongado e estreito (Moore, 1969; Serikawa et al., 1978; Carmichael; Joubert, 1988; Johnson; Walker, 1992; Carmichael; Greene, 1998). Ainda que, em comparação das cargas bacterianas, a carga na urina seja de até 10^6 bactérias/ml (Marloes A.M. Van Dijk, Marc Y. et al., 2021), enquanto a das descargas genitais seja de até 10^{10} bactérias/ml (Carmichael L.E.; Joubert J.C., 1988), o tempo de exposição à urina pode desempenhar um papel importante na transmissão (Djokic, Vitomir, et al., 2023).

Fonte de Infecção

As fontes de infecção variam desde meios naturais até artificiais, com maior ou menor importância. Entretanto, Wanke (2004) sugere que cães são capazes de transmitir a enfermidade para outros cães e para seres humanos.

As transmissões naturais ocorrem, geralmente, devido à inalação ou ingestão de microrganismos presentes nos tecidos fetais abortados, descargas vaginais do parto ou do abortamento, assim como na urina. A transmissão venérea pode ocorrer para a fêmea e o macho, seja pela eliminação do agente nas descargas vaginais

de fêmeas infectadas durante o estro, por conter alta concentração do patógeno, ou pelo sêmen (Moore; Gupta, 1970; Carmichael; Greene, 1993; Johnson; Walker, 1992; Miranda et al., 2005). Os filhotes podem ser infectados por transmissão vertical intrauterina ou no aleitamento por fêmeas infectadas (Santos, Renato L., et al., 2021).

As transmissões artificiais envolvem a vaginoscopia, transfusão sanguínea, inseminação artificial e seringas contaminadas. Entretanto, por conter maior concentração de microrganismos, as secreções vaginais e o sêmen são os veículos mais prováveis de infecção por contaminação de mucosas (Hollett, R.B., 2006; Greene; Carmichael, 2015).

Reservatório

De acordo com Silveira et al. (2015), os animais sexualmente intactos devem ser castrados antes de iniciar a quimioterapia da brucelose canina para diminuir o risco de transmissão e remover potenciais reservatórios da infecção.

Em um estudo realizado por Nicolás Galarce et al. (2021), no Chile, foi constatada a presença de *Brucella canis* em canídeos selvagens, que podem ter sua fertilidade e reprodução afetadas, consequentemente ameaçando sua conservação. Foram obtidas quarenta e seis amostras de sangue de *Lycalopex culpaeus* (raposa-colorada) e *L. griseus* (raposa-cinzenta), detectando 10,9% de soropositividade para *B. canis*. Estas poderiam então funcionar como reservatório, destacando a necessidade de estabelecer programas de vigilância desses patógenos emergentes. Entretanto, o cão doméstico é o principal reservatório, acometendo também canídeos silvestres e, raramente, gatos (Carmichael; Joubert, 1988; Wanke, 2004).

Porta De Entrada

Nos cães, as principais portas de entrada para a bactéria são especialmente as mucosas conjuntival, oronasal e genital (Currier et al., 1982; Carmichael; Joubert, 1988; Carmichael; Greene, 1998), além do trato digestivo ou de soluções de continuidade da pele, sendo a mucosa orofaríngea a mais importante (NELSON & COUTO, 2010). Já foram induzidas infecções experimentais pelas vias subcutânea, intravenosa, intraperitoneal e intravaginal (Serikawa; Muraguchi, 1979; Meyer, 1983).

A dose mínima infectante para infecção oral é de cerca de 10^6 microrganismos, sendo esta a forma mais frequente. Já pela via conjuntival, a dose mínima infectante é de 10^4 a 10^5 microrganismos, enquanto pela via venérea a dose infectante é desconhecida (Johnson; Walker, 1992; Carmichael; Joubert, 1988; Carmichael; Greene, 1998).

Resposta Imune Humoral E Celular

A resposta inflamatória aguda é desenvolvida, sendo os anticorpos da classe IgM os primeiros a serem produzidos, seguidos pelos anticorpos IgG, os quais persistem. Lentamente, a



inflamação aguda é substituída por inflamação piogranulomatosa. A bactéria escapa dos mecanismos de degradação quando fagocitada por neutrófilos e macrófagos, sendo capaz de crescer e se replicar dentro dos macrófagos e células dendríticas, não ocorrendo fusão fagolisossômica, uma vez que acidifica o fagossomo. O crescimento e a multiplicação bacteriana, acompanhados pela morte de macrófagos infectados, geram, conseqüentemente, a inflamação piogranulomatosa nos tecidos genitais e em outros órgãos (Zachary, 2013).

A resistência adquirida à infecção por *Brucella* envolve tanto a imunidade humoral quanto a celular. Os anticorpos oferecem proteção apenas parcial e são dirigidos, principalmente, contra o lipopolissacarídeo (LPS) (Carmichael; Shin, 1996).

Entretanto, a infecção por *B. canis* induz respostas imunes principalmente mediadas por células, uma vez que dependem da ativação dos macrófagos. Essas respostas variam conforme fatores como a patogenicidade da cepa infectante, idade, imunidade do hospedeiro, estado nutricional e tratamentos prévios com antibióticos. Os anticorpos circulantes também desempenham certo papel na imunidade; entretanto, há pouca correlação entre os títulos de anticorpos e o grau de resistência. A concentração de IgM aumenta após a infecção, sendo detectada nas primeiras semanas pós-infecção e diminuindo após 3 meses. A IgG começa a aumentar na segunda semana de infecção e persiste por pelo menos um ano em pacientes não tratados. Caso haja tratamento, diminui para 6 meses. Se o aumento for persistente, é atribuído à presença de microrganismos intracelulares viáveis no tecido reticuloendotelial ou a focos de infecção (COTRINO et al., 2003).

O aumento da atividade desempenhada pelos macrófagos para eliminar a bactéria é devido à linfocina, um tipo de interleucina, liberada por linfócitos T específicos, os quais são ativados pelo reconhecimento do antígeno bacteriano e pelos componentes do complexo maior de histocompatibilidade na superfície do macrófago (González et al., 2004).

Chacon-Diaz et al. (2015) realizaram um estudo murino confirmando a estratégia patogênica de *B. canis* como uma bactéria intracelular, com uma rota de tráfico intracelular indistinguível da de *B. abortus*. Nesse estudo, documentou-se uma resposta menos robusta em camundongos infectados com *B. canis* em comparação com *B. abortus* em termos de citocinas pró-inflamatórias (TNF-alfa, IL-6, IL-12), níveis de IFN-gama, inflamação esplênica e granulomas hepáticos. Isso demonstra que *B. canis* pode ser menos patogênico do que outras espécies de *Brucella* nesse modelo murino, corroborando as observações clínicas.

Patogenia

As principais rotas de entrada do patógeno são as mucosas oronasais, conjuntivais ou genitais. Após a penetração no hospedeiro, a bactéria é fagocitada por macrófagos e outras

células fagocíticas. Esses microrganismos têm a capacidade de sobreviver dentro dos macrófagos e escapar da fusão com fagolisossomos, sendo carregados aos órgãos linfáticos (linfonodos e baço) e reprodutivos (esteróide-dependentes), onde se multiplicam. Nos machos, podem ser citados a próstata, o testículo e o epidídimo; e nas fêmeas, os fetos, o útero gravídico e a placenta. A bactéria também é encontrada no conteúdo estomacal do feto, o que sugere contaminação in utero. A placenta abortada apresenta focos de necrose coagulativa dos vilos coriônicos, arterite necrotizante e numerosas bactérias nas células epiteliais trofoblásticas (Wanke, 2004; Hollett, R.B., 2006).

A inflamação dos testículos e do epidídimo provoca extravasamento de espermatozoides, induzindo resposta imune celular e humoral. Tais respostas contribuem para a epididimite, a infertilidade e até mesmo a interrupção da espermatogênese (Hollett, R.B., 2006). Principalmente no terço final da gestação, a infecção dos trofoblastos placentários promove a perda da integridade placentária, acarretando os quadros abortivos (ROOP II, Martin R., et al., 2009). Nos machos, a replicação do microrganismo e as reações de hipersensibilidade tardia contribuem para a epididimite e a infertilidade.

No interior dos leucócitos, ocorre bacteremia, que se dissemina por via hematogênica para outros sistemas do organismo (JOHNSON; WALKER, 1992; CARMICHAEL; GREENE, 1998), entre uma e quatro semanas pós-infecção, podendo perdurar por um período de seis meses a cinco anos (KEID, 2015). São exemplos de outros tecidos alcançados pela bacteremia o disco intervertebral, olhos, rins e meninges, desencadeando, respectivamente, discospondilite, uveíte anterior, glomerulopatia e meningoencefalite, decorrentes da deposição de imunocomplexos (Greene; Carmichael, 2015).

Posteriormente à bacteremia, os títulos de anticorpos persistentes e não protetores contra *B. canis* começam a ser detectados. No entanto, parecem ter pouca influência sobre a bacteremia e o número de microrganismos encontrados nos tecidos (Carmichael; Greene, 1998; Wanke, 2004).

Segundo Chacón-Díaz et al. (2015), dentre as espécies zoonóticas de *Brucella*, a *B. canis* é a que induz o mais baixo nível de resposta pró-inflamatória, sendo detectadas, em animais infectados, baixas concentrações do fator de necrose tumoral alfa e interleucinas (IL) 6 e 12. Apesar disso, pode ocorrer hiperglobulinemia; entretanto, os anticorpos produzidos não são protetores, uma vez que a bactéria possui a característica de se localizar no interior da célula, sendo, portanto, a imunidade celular um mecanismo protetor mais efetivo (ROOP II et al., 2009). Caso haja equilíbrio nas relações de interações metabólicas e enzimáticas entre o fagócito e o microrganismo fagocitado, poderá existir um estado de parasitismo intracelular, o que explicaria a cronicidade da doença (Corrêa; Corrêa, 1992).

A recuperação espontânea pode ocorrer de um a cinco anos após a infecção inicial. Conseqüentemente, os cães se tornam



abacterêmicos e apresentam baixos títulos de anticorpos aglutinantes (1:25 ou 1:50), o que sugere a eliminação da bactéria. Nesses casos, as reinfecções não ocorrem, em consequência da eficiência da imunidade celular. Entretanto, em casos de cães com infecções crônicas que obtiveram sucesso utilizando fármacos antibacterianos, há a susceptibilidade à reinfecção oronasal 12 semanas após a interrupção do tratamento.

Em alguns casos em que a *B. canis* persiste em tecidos corporais, pode haver cultura negativa associada à diminuição do título de aglutinação no soro. No macho, a próstata pode constituir um local de persistência dos microrganismos (Holleth, R.B., 2006; Greene; Carmichael, 2015). Nos cães não tratados, a fase bacterêmica pode persistir por até cinco anos (Forbes; Pantekoek, 1988; Ledbetter et al., 2009).

Sinais Clínicos

A brucelose canina se manifesta por bacteremia prolongada, sem ocorrência de febre, iniciando-se entre uma e quatro semanas após a infecção e persistindo por no mínimo seis meses, podendo, de forma intermitente, durar 64 meses ou mais (Currier et al., 1982; Wanke, 2004). Nessa fase, o agente pode ser encontrado em variados órgãos, tais como baço, linfonodos, fígado, medula óssea e sistema reprodutivo. Raramente, cães adultos manifestam sinais clínicos sistêmicos severos, ainda que seja uma doença sistêmica, sendo os principais problemas ligados ao desempenho reprodutivo (Johnson; Walker, 1992).

Descrito por Nelson e Couto (2010), os sinais clínicos provocam grandes impactos na reprodução e, por isso, a brucelose canina é considerada uma doença da esfera reprodutiva. Entretanto, ela também pode causar claudicação ou discospondilite inespecífica (Djokic, Vitomir, et al., 2023); artrite, uveíte, meningite e encefalite podem ocorrer menos comumente (Megid, 2002). Outros sinais citados incluem linfadenopatia periférica, acompanhada ou não de infertilidade em ambos os sexos, e raramente acompanhada de febre (Forbes; Pantekoek, 1988; Corrêa; Corrêa, 1992; Keid et al., 2004). Congestão, edema subcutâneo e hemorragia subcutânea na região abdominal também podem ocorrer (Rodrigues et al., 2016).

Há descrições na literatura sobre manifestações oculares, tais como panuveíte, endoftalmite, coriorretinite, panoftalmite, descolamento de retina, vitreíte e ceratoconjuntivite. Entretanto, os relatos sobre oftalmopatias relacionadas à infecção natural por *Brucella canis* ainda são considerados escassos (Santos, L. G. dos et al., 2021).

Os sinais geralmente são específicos de acordo com o sexo, ainda que alguns possam ser assintomáticos e outros possam ser comuns a ambos. A maioria dos cães infectados por *B. canis* não desenvolve outros sinais clínicos além do aumento dos nódulos linfáticos, e a manifestação clínica pode variar com sinais menos frequentes, especialmente em cães castrados (Santos, Renato L. et al., 2021).

As cadelas têm como principal sinal clínico o abortamento no terço final da gestação (MEGID, 2002). Entretanto, também podem ocorrer abortos em outra fase da prenhez, sendo caracterizados normalmente por autólise fetal e secreção vaginal serossanguinolenta de cor escura e/ou esverdeada, com duração de uma a seis semanas. Os ciclos estrais das fêmeas apresentam poucas alterações perceptíveis ou permanecem normais. Os filhotes sobreviventes podem apresentar linfadenopatia generalizada e manter a infecção até a maturidade sexual (Forbes; Pantekoek, 1988; Corrêa; Corrêa, 1992).

Os cães sexualmente maduros podem apresentar orquite e epididimite e, conseqüentemente, aumento do testículo, com acúmulo de fluido serossanguinolento, além de atrofia testicular uni ou bilateral, redução no número de espermatozoides e presença de células inflamatórias no ejaculado (Forbes; Pantekoek, 1988; Corrêa; Corrêa, 1992; Quinn et al., 2005). A partir da 4ª semana pós-infecção, tornam-se evidentes a redução da motilidade dos espermatozoides, da concentração e do volume espermático, assim como defeitos espermáticos e diminuição na qualidade seminal. Dermatite na bolsa escrotal por lambadura pode ocorrer, favorecendo o surgimento de infecções secundárias, principalmente por *Staphylococcus aureus* (Forbes; Pantekoek, 1988; Carmichael; Greene, 1998).

Em torno da oitava semana pós-infecção, as anormalidades tornam-se mais evidentes, tais como cauda fortemente enrolada, acrossomas deformados, peça intermediária dobrada, decapitações e redução de motilidade (podendo haver apenas 10% dos espermatozoides móveis). A partir da décima segunda semana, aglutinações espermáticas podem ser notadas, devido à resposta autoimune com produção de anticorpos contra os espermatozoides (George et al., 1979).

Nos humanos, a maioria dos casos envolve sintomas leves da doença, como cefaleia, fraqueza e febre. Ocasionalmente, a infecção pode ser severa, incluindo abortos, osteomielite e aneurismas infecciosos associados à endocardite brucélica (Krueger et al., 2014; Dentinger et al., 2015). Além disso, podem ocorrer depressão, icterícia, dores articulares (Nelson; COUTO, 2010), calafrios, suores, perda de peso, hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenopatia, fadiga, mal-estar e lesões orais. A febre é frequentemente periódica e noturna (Carmichael L.E.; Greene C.E., 2006; Hollett R.B., 2006; Nasphv, 2017). A neurobrucelose (por meningoencefalite) é incomum em cães, diferentemente dos seres humanos (Greene; Carmichael, 2015).

Sinais inespecíficos não são frequentemente observados; entretanto, também são descritos, como pelagem seca e sem brilho, depressão, letargia, perda do vigor, perda de peso, anorexia e tolerância reduzida ao exercício (Keid, 2015).

Achados Anatomopatológicos

Nas fêmeas, geralmente a infecção está associada a placentite, metrite e aborto, com necrose focal das vilosidades coriônicas e



numerosas bactérias nas células trofoblásticas (CARMICHAEL L.E.; KENNEY R.M., 1968a). Segundo Ramírez (2006), também ocorre hipertrofia glandular do útero com infiltração da lâmina própria por linfócitos e formação de granulomas, com infiltração de neutrófilos. Restos de placenta podem permanecer no útero, apresentando necrose focal coagulativa das vilosidades coriônicas. A cadela excretará uma descarga uterina (metrorreia) de coloração verde-acinzentada, acastanhada ou avermelhada, por um período de uma a seis semanas pós-aborto (HOLST et al., 2012).

As lesões induzidas no útero gravídico canino e nos fetos são semelhantes às lesões induzidas por *Brucella* spp. em outras espécies (Carvalho Neta, A.V., et al., 2010; Poester, F.P.; Samartino, L.E.; Santos, R.L., 2013).

Fetos abortados podem apresentar miocardite, hemorragia renal, hepatite, linfadenite e broncopneumonia, além do nascimento de filhotes fracos, que possuem alta taxa de mortalidade neonatal (Carmichael L.E.; Kenney R.M., 1968b; Souza T.D. et al., 2018). Comumente, apresentam aspecto de autólise, com natimortos exibindo achados de infecção bacteriana generalizada, como edema subcutâneo, hemoperitônio e lesões degenerativas hepatoesplênicas, renais e intestinais (Holst et al., 2012). A bactéria foi detectada em uma ampla gama de tecidos de neonatos naturalmente infectados, tais como linfonodos, estômago, rins, umbigo, fígado, pulmões, baço e sistema nervoso central (Souza T.D. et al., 2018).

Nos machos, a epididimite parece ser a lesão primária mais comum do que a orquite (Carmichael L.E.; Kenney R.M., 1968c). A condição também está frequentemente associada a alterações inflamatórias na pelve renal e na próstata (MOORE J.A.; Kakuk T.J., 1969). Constata-se, ainda, epididimite, orquite, hidrocele, dermatite escrotal por lambadura constante, além de infecção bacteriana secundária focal e atrofia testicular uni ou bilateral nos casos crônicos. Há também relatos de prostatite na literatura (Greene; Carmichael, 2015; Keid, 2015).

Diagnóstico

O diagnóstico de *Brucella canis* continua sendo um desafio devido aos frequentes resultados falso-negativos em métodos diagnósticos diretos e indiretos utilizados para detectar a infecção em cães adultos e humanos (Carmichael L.E., S.J., 1996; Lucero N.E. et al., 2005; Taques I.I.G.G. et al., 2016). Entretanto, comprovou-se a eficiência da associação de métodos diretos e indiretos, como a cultura de sangue associada ao PCR, principalmente o PCR genital, como ferramentas importantes para o diagnóstico da brucelose canina (Keid et al., 2009).

O diagnóstico determinante da brucelose é possível apenas com o isolamento bacteriológico do agente causal (Pessegueiro et al., 2003; Keid et al., 2007; Mantur et al., 2007). O diagnóstico diferencial inclui *Streptococcus β-hemolíticos*, *Ureaplasma*, *Escherichia coli*, *Streptomyces*, *Salmonella*, *Mycoplasma*,

Campylobacter, *Herpesvírus Canino*, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* (Corrêa; Corrêa, 1992; Keid et al., 2007).

É importante salientar que o resultado negativo do cultivo não pode confirmar a ausência de infecção por *B. canis*, devido a vários fatores, como a eliminação intermitente da bactéria, material mal colhido ou mal conservado, além do uso de antibióticos, que podem diminuir a sensibilidade do exame (Flores-Castro; Carmichael, 1981; Minharro et al., 2005).

Clínico-Epidemiológico

Aumentam a suspeita clínica o histórico de abortamento recente em fêmeas e o aparecimento de machos com orquite, epididimite e/ou outros sinais clínicos da brucelose (Megid et al., 2002), assim como deficiências reprodutivas, atrofia testicular e baixa qualidade seminal, o que deve levar à investigação da doença (Flores-Castro; Carmichael, 1981).

Entretanto, visto que a sintomatologia da brucelose é inespecífica em muitas ocasiões, é importante, para a suspeita clínica, obter uma história detalhada com base em informações epidemiológicas (Pessegueiro et al., 2003a; Mantur et al., 2007).

A ultrassonografia pode ser aplicada para obtenção de informações mais detalhadas sobre tecidos afetados (Egloff, S. et al., 2018), e no exame radiográfico da coluna vertebral podem ser observadas alterações características de discospondilite (Tipold; Stein, 2010).

No entanto, para chegar ao diagnóstico definitivo, deve-se sempre usar a anamnese e os dados clínicos em conjunto com sorologia e bacteriologia (Wanke, 2004). O hemograma não é muito específico (Megid et al., 2000), podendo apontar anemia, contagem de leucócitos normal ou baixa, com linfocitose relativa e trombocitopenia. A proteína C reativa (PCR) está comumente elevada, e a velocidade de sedimentação (VS) é variável, tendo pouca importância diagnóstica. Ainda pode haver elevação das enzimas hepáticas, um achado também inespecífico (Pessegueiro et al., 2003b).

Laboratorial

Provas Laboratoriais De Rotina: ainda que se trate de uma doença sistêmica, os animais infectados por brucelose geralmente não apresentam alterações hematológicas, bioquímicas ou urinárias (Johnson; Walker, 1992). Estudos realizados em cães com casos de infecção por *B. canis* demonstraram que os cães infectados e que exibiram sinais clínicos não apresentavam quaisquer alterações na urinalise (Megid et al., 2000), nem alterações hematológicas expressivas (Chacón-Díaz et al., 2015). Nos cães com infecção crônica, pode-se encontrar hiperglobulinemia associada à hipoalbuminemia e teste de Coombs positivo. Na análise citológica de aspirados dos linfonodos hipertrofiados, pode-se observar hiperplasia linfóide com grande número de plasmócitos



(Greene; Carmichael, 2015). Os achados citológicos da orquite e epididimite por *B. canis* são semelhantes àqueles presentes em inflamações de outros tecidos. Podem estar presentes macrófagos e células gigantes multinucleadas; entretanto, a observação do microrganismo pode ser rara (Zinkl, 2009).

Bacteriológico: o cultivo, isolamento e identificação são realizados mediante a obtenção das amostras colhidas. O material deve ser acondicionado em local apropriado e encaminhado o mais breve possível ao laboratório. A depender do tempo para a chegada do material biológico ao laboratório, é importante que a amostra esteja congelada a -20°C , a fim de evitar a perda da viabilidade de *B. canis* (Carmichael, 1998). Como *B. canis* é considerado um patógeno de biossegurança nível 3, o isolamento deve ser realizado em laboratórios com instalações adequadas para este objetivo (Teixeira; Valle, 1996a). O isolamento e a identificação de *Brucella canis* são considerados métodos de alta especificidade diagnóstica (Teixeira; Valle, 1996b). No entanto, apresentam baixa sensibilidade devido à eliminação intermitente do agente, coleta e acondicionamento inadequados do material biológico ou ao uso de antibióticos (Keid, 2006). O isolamento do agente é a única forma de diagnóstico definitivo (Wanke, 2004), embora existam diversos métodos de diagnóstico. O cultivo pode ser realizado a partir de amostras de sangue, descargas vaginais, sêmen, urina, leite, linfonodos, baço, fígado, medula óssea, útero, próstata, epidídimo e testículos (Keid, 2015), além da placenta, fetos abortados e neonatos (Vargas et al., 1996). Entretanto, a hemocultura pode revelar resultados falso-negativos em cães cronicamente infectados, quando a bacteremia é tipicamente ausente ou intermitente (Greene; Carmichael, 2015).

Sorologia: os exames sorológicos apresentam dificuldades relacionadas à disponibilidade de antígenos (Minharro et al., 2005), além de estarem sujeitos a erros de interpretação ocasionados pela possibilidade de reações cruzadas com infecções por outros organismos, tais como *Bordetella bronchiseptica*, *Pseudomonas* e *Actinobacillus equuli* (Ettinger; Feldman, 1997). Os testes sorológicos rotineiramente usados detectam antígenos da *B. abortus*, que realizam reação cruzada com a *B. melitensis* e a *B. suis*, mas não com a *B. canis*. A identificação de *B. canis* requer testes específicos, que são raramente disponíveis (Pesseguero et al., 2003; Minharro et al., 2005). Como a *B. canis* é uma *Brucella* que não possui a cadeia O do lipopolissacarídeo (LPS) da parede celular completa e apresenta morfologia rugosa, os antígenos preparados com amostras lisas de *Brucella*, como a *B. abortus* utilizada no diagnóstico da brucelose bovina, não são capazes de detectar anticorpos anti-*B. canis*, sendo necessária a utilização de antígenos preparados com amostras de *B. canis* ou *B. ovis* (Minharro et al., 2005). Os quatro principais testes sorológicos empregados para o diagnóstico da brucelose canina são: TAT, TARP, TARP-ME e IDGA (Carmichael et al., 1984). TAT e TARP, com ou sem adição de 2-mercaptoetanol, são recomendados para procedimentos de triagem, enquanto o IDGA é considerado o teste confirmatório para o diagnóstico da enfermidade (Minharro et al., 2005). É importante estabelecer

que os testes sorológicos devem ser usados na rotina diagnóstica com o objetivo de realizar a triagem de animais suspeitos. Nenhum dos testes sorológicos utilizados no diagnóstico da brucelose canina é definitivo, devido, principalmente, à presença de anticorpos inespecíficos, indicando, portanto, a realização de pelo menos dois testes sorológicos (Carmichael; Shin, 1996).

Imunocromatografia: a técnica diagnóstica de imunocromatografia apresentou alta sensibilidade e especificidade em comparação à hemocultura e o TARP-ME, sendo, portanto, uma ferramenta útil, rápida e eficaz para auxiliar no diagnóstico da enfermidade (KIM et al., 2007).

Soro-Aglutinação Lenta em Tubo (Sal): a Soro-aglutinação lenta em tubo (SAL) é considerado um teste menos sensível e um pouco mais específico que o SAR (Carmichael; Greene, 1998a). Também chamada de teste de aglutinação em tubo, é empregada para diminuir a incidência de falsos positivos da SAR, portanto, é comumente usada para confirmar a infecção em cães que apresentaram resultado reagente na SAR simples ou adicionada ao 2-ME. Irá evidenciar resultados positivos em torno de duas a quatro semanas após a infecção. Apesar de não ser um teste muito específico, tem a vantagem de ser semiquantitativo. Um título igual ou superior a 2:200 demonstra infecção ativa, enquanto indivíduos com títulos abaixo de 1:200 devem ser, em aproximadamente duas semanas, testados novamente. A adição de 2-ME ao referido teste, aumenta a especificidade por reduzir reações cruzadas com outros microrganismos (Wanke, 2004; Hollet, 2006; Makloski, 2011). Os títulos até 1:50 são considerados negativos (Carmichael; Greene, 1998b).

Imunodifusão Em Gel De Agar (Idga): O teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) é empregado para confirmação dos resultados positivos na SAR e SAL simples ou associadas ao 2-ME. São padronizados dois tipos de IDGA: um mais específico que utiliza antígenos de proteínas citoplasmáticas e um que utiliza antígenos da parede celular bacteriana (Makloski, 2011). Revela positividade em animais infectados de 12 semanas seguintes da infecção até 36 meses após o final da bacteremia, fator que torna o IDGA o teste mais adequado para o diagnóstico de animais com infecção crônica (Greene; Carmichael, 2015). A IDGA utilizando antígenos citoplasmáticos é o método mais específico para identificação de *Brucellas* rugosas utilizando antígenos citoplasmáticos, além de possuir como vantagem a capacidade de detecção de anticorpos circulantes até 3 anos após a bacteremia ter cessado (Oliveira, 2011).

Soro-Aglutinação Rápida em Lâmina (Sar): A soro-aglutinação rápida em lâmina (SAR), tem sido o teste sorológico mais utilizado na triagem de animais possivelmente infectados com *B. canis*, e apresenta como vantagem o custo baixo, facilidade de realização, além de resultado rápido (Costa, Mizael M. et al.; 2017). O antígeno usado na SAR é proveniente da *B. ovis* corado com rosa bengala, e permite a utilização de sangue hemolisado, fator este limitante no uso da soro-aglutinação em tubo. Esta técnica é capaz de revelar anticorpos a partir de 3 a 4 semanas da infecção. Entretanto, a interpretação do SAR deve ser cautelosa,



pois apesar de apresentar boa sensibilidade, a especificidade é baixa podendo, portanto, haver falsos positivos e, quando negativa, é uma forte evidência de não estar infectado (Cavalcante, 2006). Tanto a SAR com, quanto a sem 2-mercaptoetanol (2-ME), utiliza a *B. ovis* corada (Makloski, 2011). Os falsos-positivos apresentados, entre 50 e 60%, é decorrente de reações cruzadas com anticorpos direcionados a outros microrganismos, como por exemplo a *Bordetella*, as *Pseudomonas* e a *Moraxella*. Deste modo, os animais positivos nesse teste devem ter as amostras analisadas por outras provas laboratoriais específicas para o diagnóstico confirmatório. A associação com o 2-ME reduz a aglutinação heteróloga e, como consequência, diminui as reações falso-positivas por aumentar a especificidade do teste. Nos animais com fases mais avançadas da doença ou em casos de infecções crônicas, os títulos decrescem e permanecem em baixos níveis (Hollet, 2006; Makloski, 2011; Keid, 2015).

Reação De Fixação De Complemento (CFT): a reação de fixação de complemento (CFT) possui alta especificidade e sensibilidade, sendo usada para confirmação do diagnóstico de infecções por *B. ovis* e *B. abortus*, entretanto é pouco empregada na rotina para diagnóstico da infecção de cães por *B. canis* (Azevedo et al., 2004).

Ensaio Imunoenzimático (ELISA): foram propostas diversas abordagens em ELISA para o diagnóstico sorodiagnóstico da infecção. Entretanto, apresentam resultados variados de acordo com as propriedades do antígeno usado no ensaio. São usados antígenos da parede de *B. canis* e da parede de *B. abortus*, que é comum a várias espécies de *Brucella* (Serikawa; Muraguchi; 1979; Johnson E Walker, 1992; Mateus-De-Antonio et al., 1993a; Baldi et al., 1994; BALDI et al., 1997; Letesson et al., 1997). A vantagem desses testes é de não apresentarem reações cruzadas com outras bactérias que não sejam desse gênero. O ELISA indireto é bastante específico, entretanto é menos sensível que a SAL, tratando-se da triagem de cães infectados (Carmichael; Greene, 1998), mais sensível do que os testes sorológicos de aglutinação (Wanke, et al., 2002), e mais específico do que o AFI (teste de anticorpo fluorescente indireto), sendo capaz de detectar cães positivos em um período de 30 dias após a infecção (Hollet, 2006; Makloski, 2011). O uso de antígenos purificados têm sido indicado para o teste de ELISA, em diagnósticos confirmatórios aos testes de triagem, substituindo os testes com 2ME ou gel difusão (Lucero, et al., 2002; Ebani, et al., 2003). Diferentes técnicas usadas para extração de antígenos de *Brucella canis* podem causar interferência na composição proteica ou alterar a estrutura primária dos epítopos, fator que afetaria sua função. Alguns autores demonstraram que os antígenos citosólicos podem fornecer sorotestes mais sensíveis e específicos em comparação com preparações antigênicas de membrana externa de *B. canis* (Carmichael; Joubert, 1987). Testes de ELISA indireto com antígenos extraídos por solução salina aquecida (HSS) de amostra não mucoide de *B. canis* demonstraram melhor sensibilidade (variante M-) (Antonio et al., 1993b). Outros, no entanto, argumentam que Não existem diferenças importantes em ELISAs independente do antígeno (Wanke et al., 2002). O

antígeno extraído por calor, segundo De Oliveira MZ et al., (2011), apresentou melhores resultados de ELISA do que o antígeno extraído por ultrassom. Outro fator que favorece o por calor, é não precisar de equipamentos mais sofisticados e/ou técnicos altamente treinados, o que favorece a aplicação do teste para estudos de campo ou de pesquisas populacionais, sendo confiável e seguro. Ela completa o estudo ressaltando as vantagens importantes do ELISA em relação a outros testes sorológicos comumente utilizados para o diagnóstico de brucelose canina, como por exemplo fornecimento de resultados prontamente mensuráveis e ser de fácil execução e padronização.

Teste De Anticorpo Fluorescente Indireto (Afi): A sensibilidade do teste de anticorpo fluorescente indireto (AFI) até o presente não é bem estabelecida, o que faz com que alguns cães infectados possam apresentar resultados negativos neste método (Hollet, 2006; Makloski, 2011).

Reação Da Polimerase Em Cadeia (PCR): A PCR é cada vez mais utilizada no diagnóstico da brucelose nas várias espécies de animais e nos humanos. Trata-se de um método altamente sensível e específico - sensibilidade e especificidade de 100% em amostras sanguíneas. O teste pode ser realizado com amostras de sangue total, do sêmen ou, ainda, vaginal, sendo que para as duas últimas, são descritas sensibilidade de 86,6 e 67,3% (respectivamente) e 100% de especificidade para ambas (Keid, 2015). A técnica pode ser executada quando animais que apresentam sinais clínicos compatíveis com brucelose obtêm resultados negativos nos demais testes laboratoriais (Greene; Carmichael, 2015). Em comparação com a hemocultura e o TARP-ME, utilizando amostras de sangue e de leite de animais infectados, a PCR se apresentou eficaz no auxílio do diagnóstico da *B. canis*. (Oliveira et al., 2011). As técnicas moleculares são os métodos mais eficazes para detecção de brucelose, como a PCR clássica e a PCR em tempo real. O método PCR aplica diversos pares de primers para amplificar diferentes fragmentos do genoma. Os exemplos dos genes utilizados para a identificação de *Brucella* spp. são: BCSP 31 (primers: B4/B5), sequência de 16S rRNA (primers: F4/R2), gene *omp2* (primers: JPF/JPR) (Badour E Alkhalifa, 2008).

Imunohistoquímica (IHQ): o uso de tecidos testiculares fixados em formalina e embebidos em parafinas (FFPE) oferece oportunidade para detecção de *B. canis* através de PCR ou imuno-histoquímica (IHQ) na carência de amostras disponíveis para cultura (Camargo-Castañeda AM et al. 2021a). Os resultados do estudo realizado por Camargo-Castañeda et al. (2021b) em cães diagnosticados clinicamente com orquite, sugerem que a rtPCR e IHQ são técnicas promissoras que podem ser utilizadas em tecidos FFPE para detectar *B. canis* quando outras técnicas de detecção não estão disponíveis. Considerou-se razoável o uso do IHQ como teste coadjuvante na detecção da infecção por *B. canis* em tecidos reprodutivos caninos masculinos, com maior certeza de detecção com base nos resultados do rtPCR. Entretanto, o uso dessa técnica para detecção de *B. canis* é difícil devido à falta de anticorpo comercialmente disponível e a produção de anticorpos



anti-Brucella in house é restrita a instalações de biossegurança nível 3 (Brennan et al., 2008).

Espermograma: de acordo com Greene; Carmichael (2015), o exame de sêmen de cães infectados, usualmente revela espermatozoides anormais e severa redução de motilidade. Os animais que estão infectados por mais de cinco semanas possuem decréscimo expressivo do volume do ejaculado. Após oito semanas de infecção, há um número acentuado de espermatozoides com alterações morfológicas, as quais incluem espermatozoides imaturos, acrossomas deformados, caudas curvas, aumento da peça intermediária e gotículas protoplasmáticas retidas, cabeças desprendidas, aglutinação entre cabeças e, ainda, fagocitose de cabeça espermática por células inflamatórias.

Tratamento

A recuperação do animal infectado pode ocorrer espontaneamente, no entanto o tratamento pode acelerar a recuperação, podendo ter também tratamento específico para outros órgãos específicos (Carmichael; Greene, 2006). O tratamento é de modo geral realizado à base de antibioticoterapia, entretanto, os resultados são incertos e são comuns recidivas (Wanke, 2004).

O período da terapia antimicrobiana para o tratamento da brucelose canina é prolongado (maior que seis semanas), e ainda pode resultar na não erradicação definitiva da infecção. Ainda é, atualmente, desconhecida a melhor terapia antimicrobiana para brucelose canina. A antibioticoterapia na brucelose canina reduz a sintomatologia e a reincidência das complicações. Vários antibióticos têm sido utilizados, isoladamente ou em combinação, e nenhum foi 100% eficaz na erradicação da doença. Também demonstrou que deve ser utilizada terapêutica combinada, uma vez que as monoterapias (tratamentos com apenas uma droga), além de não serem bem-sucedidas, apresentam taxas de recidivas demasiadamente elevadas (Pessegueiro et al., 2003; Wanke, 2004).

Wanke et al., (2000) observaram um caso em que um cão infectado apresentou títulos negativos imediatamente após o tratamento, porém, ao mesmo tempo, foram isoladas bactérias em seu sêmen (Wanke, 2004). Fator esse que demonstra a titularidade negativa de anticorpos, porém a presença do patógeno, necessitando se pensar na possibilidade de transmissão para outros animais, de humanos, além do gasto financeiro.

Traz-se resultados mais experientes e mais eficazes do tratamento da brucelose canina in vivo, a combinação a partir de dois antimicrobianos, sendo um o aminoglicosídeo estreptomicina e o outro uma tetraciclina, como, por exemplo, o cloridrato de tetraciclina, doxiciclina, minociclina quando administrados durante os primeiros 3 meses de infecção. Existe a unanimidade de alguns autores na conclusão de que a politerapia reduz o número de recidivas, principalmente se a estreptomicina

for um dos antibióticos usados (Schin; Carmichael, 1999; Pessegueiro et al., 2003; Quinn et al., 2005).

Todavia, o tratamento permanece não sendo aconselhado para cães em canis de reprodução, devido ao caro custo do tratamento e a difícil cura dos sinais clínicos, notadamente nos machos cronicamente infectados. Pois estes costumam continuar estéreis por danos irreversíveis aos testículos e epidídimos, além de poderem permanecer a transmitir a doença (SCHIN; CARMICHAEL, 1999; WANKE, 2004).

Medidas De Controle De Prevenção

Não existe vacina disponível para prevenir a infecção, identificar e segregar os animais infectados é tida como a principal medida para controle da brucelose numa população confinada (Makloski, 2011; Pickerill; Carmichael, 1972). Caso as medidas profiláticas e de controle não sejam implementadas, os canis de reprodução podem manter a infecção (Greene; Carmichael, 2015).

Segundo Borie, C. et al., (2022), os estudos genéticos da *B. canis* para preparação de vacinas são relativamente novos e menores em comparação com as espécies mais tradicionais de Brucella. Os anticorpos induzidos pela formulação da BLSOmp31, por Clause et al., (2013), testada em camundongos, pretendia promover a morte da *B. canis* por ativação do complemento, opsonização e fagocitose ou através da promoção de toxicidade celular dependente das células NK ou outras células assassinas durante a vida extracelular deste patógeno no soro ou nos tecidos das mucosas, que se mostraria eficaz na prevenção do risco de infecção por *Brucella canis*. Este seria o primeiro relato de uma vacina recombinante conferindo proteção contra *B. canis* em camundongos.

Em 2017, Clause et al., analisaram a vacina recombinante BLSOmp31 em 5 beagles, a qual induziu resposta Th2 e humoral da mucosa (IgA e IgG) na saliva, secreção prepuccial e lágrimas, além de destaque na atividade bactericida do soro e a atividade opsonizante dos anticorpos, que pode desempenhar um papel protetor na fase inicial da bacteremia, evitando que *B. canis* entre nos tecidos brancos. Pretende-se, no futuro, aumentar o número de cães para mais estudos e estratégias da vacina em condições de campo.

Eckstein et al., (2020) utilizaram uma cepa mutante de *Brucella ovis* em um transportador ABC para estudo protetor contra *B. canis* em modelo murino e em macrófagos caninos. Ao final do estudo, concluiu-se que a segurança da vacina, pois não apresentou sinais clínicos, além da reação local no ponto de inoculação que retornou 4 semanas após a injeção. Detectou-se a soroconversão contra *Brucella rugosa* em 80% dos cães (4/5 usados) na quarta semana pós-imunização.

Mesmo que atualmente existam propostas variadas de vacinas em termos de tipo de vacina, proteção, dose, cepa e modelo experimental, ainda não existe uma preparação comercial que permita frear a expansão da brucelose canina considerando a



variabilidade genética em relação a fatores de virulência (Borie, C. et al., 2022).

As medidas de prevenção da brucelose por *B. canis* são baseadas em aspectos sanitários, controle sorológico regular dos animais do canil, castração de cães infectados, isolamento das fêmeas em parição, eliminação dos positivos desinfecção sistemática do canil e quarentena antes da introdução de novos animais (Flores-Castro; Carmichael, 1981; Berthelot; Bastuji, 1996)

O Departamento de Agricultura da Geórgia e o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos propuseram estratégias detalhadas de prevenção em instalações de reprodução, ainda que não sejam medidas padronizadas, tais quais: cães devem possuir resultado negativo nos testes de triagem serial realizados com 8 semanas de intervalo antes da admissão em um canil ou em um programa de melhoramento. Caso positivo, devem ser isolados e as decisões tomadas sobre a eutanásia, ou tratamento e monitoramento, incluindo a castração. Em relação à biossegurança, os princípios de controle de infecção incluirão uso de EPIs de uso único (luvas, óculos, máscaras, botas, vestidos); manuseio apropriado de amostras; lavagem completa das mãos; desinfecção de rotina (hipoclorito de sódio a 2,5, compostos de amônio quaternário ou 70% de etanol com um mínimo de 10 minutos de contato); prevenção de biofilme (minimize o material orgânico), secagem e exposição à luz solar; educação de funcionários e clientes; e notificação do pessoal do laboratório que recebe amostras quanto ao diagnóstico suspeito (Carmichael, LE; Greene, CE, 2006; Hollett, RB, 2006; Nasphv, 2017; USDA, 2017; Cfsph, 2017; AGR, 2017).

CONCLUSÃO

A brucelose canina é uma doença emergente e precisa de atenção das autoridades, ainda que não possua patogenicidade tão elevada quanto às demais espécies de *Brucella*, pelo seu rápido

poder de disseminação, por não existir até o momento vacinas comerciais disponíveis e, principalmente, pelo papel desenvolvido pelos pets atualmente, levando em consideração que é uma zoonose.



REFERÊNCIAS

AZEVEDO, S.S. et al. Inquérito sorológico e fatores de risco para a brucelose por *Brucella canis* em cães do município de Santana do Parnaíba, Estado de São Paulo. *Pesq Vet Bras*, v.23, n.4, p.156-160, 2003.

BALDI, P.C.; et al. *Brucella abortus* cytoplasmic proteins used as antigens in an ELISA potentially useful for the diagnosis of canine brucellosis. *Veterinary Microbiology*, v. 41, p. 127-34, 1994.

BARG, L.; GODOY, A.M.; PERES, J.N. *Brucella canis* - novo agente de brucelose canina. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* Vol. XI N° 6. 1977. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/JR9ZMtQGG5BqgYFDTNCRpTP/?format=pdf&lang=pt>. Acesso: 29 jan. 2024.

BERGO, D. ; OLIVEIRA, L. ; RIBEIRO, R. de C. ; ZAMARIAN, T. ; GONÇALVES, D. . Anticorpos anti-brucella canis em cães com suspeita de doença infecto-parasitária da cidade de Umuarama, Paraná. *Enciclopédia biosfera*, [S. l.], v. 9, n. 17, 2013. Disponível em: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/3011>. Acesso em: 29 jan. 2024.

BOECHAT, Viviane Cardoso. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella canis* em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* e alterações histológicas associadas no trato genital. Rio de Janeiro, 2019, 107 f. Tese [Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/48564/000247360.pdf?sequenc e=2&isAllowed=y>. Acesso: FEV 2024.

BORIE, C. et al. Diversidade genética em *Brucella canis*: aplicação no desenvolvimento de vacinas. In: Congresso Internacional da associação latino-americana de reprodução em pequenos animais, 2022, Punta del Este, Uruguai: Editora, 2022. DOI: 10.21451/1809-3000.RBRA2022.041.

CAMARGO-CASTAÑEDA, A. M. et al. Characterization of epididymal and testicular histologic lesions and use of immunohistochemistry and PCR on formalin-fixed tissues to detect *Brucella canis* in male dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 33(2), 352-356. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1040638720986883>. Acesso: fev. 2024.

CARMICHAEL, L. E.; JOUBERT, J. C. Transmission of *Brucella canis* by contact exposure. *Cornell Vet*, 78(1), 63-73. 1988. PMID: 3335131. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3335131/>. Acesso: Jan. 2024.

CARMICHAEL, L.; GREENE, C.E., *Canine brucellosis*. In: GREENE, C.E. (ed.). *Infectious diseases of the dog and cat*. 2. ed. Philadelphia: W.B. Sanders, p. 248-257, 1998.

CARMICHAEL, L.E. Abortion in 200 beagles. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 149, n. 8, p.1126, 966.

CARMICHAEL, L.E.; KENNEY, R.M. Canine brucellosis: the clinical disease, pathogenesis and immune response. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 156, p. 1726-34, 1970.

CARVALHO, Thaynara Parente de. Patogenicidade de cepas de *Brucella ovis* isoladas de campo e avaliação da proteção induzida pela cepa vacinal encapsulada *B. ovis* ΔabcBA em camundongos [manuscrito], 2019. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária. 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/30446/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Thaynara.pdf>. Acesso: Jan. 2024.

CLAUSSE, Maria et al. Polymeric antigen BLSOmp31 in aluminium hydroxide induces serum bactericidal and opsonic antibodies against *Brucella canis* in dogs. *Vet Immunol Immunopathol*, 184, 36-41. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.11.004>. Acesso: Fev. 2024.

CLAUSSE, Maria et al. The vaccine candidate BLSOmp31 protects mice against *Brucella canis* infection. *Vaccine*, 31(51), 6129-6135. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.07.041>. Acesso: Fev. 2024.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*. 2.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992. 843p.

COSFORD, Kevin L. *Brucella canis*: An update on research and clinical management. *Can Vet J.*; 59(1):74-81. Jan. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5731389/>. Acesso: Jan. 2024.

COSTA, Mizael et al. *Brucelose Canina*. *Investigação*, 16(8): 01-07, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.26843/investigacao.v16i8.1699>. Acesso: Jan. 2024.

DE OLIVEIRA, MZ., et al. Validation of an ELISA method for the serological diagnosis of canine brucellosis due to *Brucella canis*. *Res Vet Sci*. 2011 Jun;90(3):425-31. doi: 10.1016/j.rvsc.2010.07.004. Epub 2010 Aug 9. PMID: 20692004.

DENTIGER, C. M., et al. Human *Brucella canis* Infection and Subsequent Laboratory Exposures Associated with a Puppy, New York City, 2012. *Zoonoses Public Health*, 62: 407-414. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/zph.12163>>. Acesso: 05 set. 2024.

DINIZ, Jaqueline Assumpção. Desenvolvimento, padronização e validação de reação em cadeia pela polimerase (PCR) em tempo real para diagnóstico da brucelose canina. 2018. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, University of São Paulo, São Paulo, 2018. doi:10.11606/D.10.2018.tde-08102018-113154. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10134/tde-08102018-113154/en.ph p>. Acesso em: 01 fev. 2024.

DJOKIC, Vitomir. et al. The emergence of *Brucella canis* as a public health threat in Europe: what we know and what we need to learn. *Emerging Microbes & Infections*, 12(2). 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/22221751.2023.2249126>. Acesso: Jan. 2024.

EGLOFF, S et al. *Brucella canis* infection in a young dog with epididymitis and orchitis. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 160(12):743-748 (2018). Disponível em: <https://doi.org/10.17236/sat00190>. Acesso: 26 ago 2024.

FREY, A.; DI CANZIO, J.; ZURAKOWSKI, D. A statistically defined endpoint titer determination method for immunoassays. *Journal of immunological methods*, v. 221,n. 1-2, p. 35-41, 1998

GALARCE, Nicolás et al. Survey of Zoonotic Bacterial Pathogens in Native Foxes in Central Chile: First Record of *Brucella canis* Exposure. *Animals*, 11, 1980. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani11071980>. Acesso: fev. 2024.

GŁOWACKA, P. et al. *Brucella* - Virulence Factors, Pathogenesis and Treatment. *Polish journal of microbiology*, 67(2), 151-161. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.21307/pjm-2018-029>. Acesso: fev. 2024.

HOLLETT, RB. Canine brucellosis: outbreaks and compliance. *Theriogenology*. 2006.May 23 2006. Disponível em: < 10.1016/j.theriogenology.2006.04.011>. Acesso: Jan, 2024.

KEID, L. B. et al. *Brucella canis* infection in dogs from commercial breeding kennels in Brazil. 13 March 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tbed.12632>. Acesso: Jan. 2024.

LAWACZEK, E.; et al. *Brucella canis* in a HIV-Infected Patient. *Zoonoses and Public Health*, 58: 150-152. 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2010.01334.x>>. Acesso: 05 set. 2024.

MACHADO, M. A., SOLER, N. B., & FREITAS, J. C. Porcentagem de cães soropositivos para *Brucella canis* apresentando problemas reprodutivos atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina. *ARS Veterinaria*, 29(3), 161-168. 2013. Disponível em: <https://arsveterinaria.org.br/index.php/ars/article/view/594/892>. Acesso: fev. 2024.

MORENO, E., CLOECKAERT, A., & MORIYÓN, I. *Brucella* evolution and taxonomy. *Vet Microbiol*, 90(1-4), 209-27. 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(02\)00210-9](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(02)00210-9). Acesso: Jan. 2024.

OLIVEIRA, De Maria Zoraida Daltro. Validation of an ELISA method for the serological diagnosis of canine brucellosis due to *Brucella canis*. *Research in Veterinary Science*. Volume 90, Issue 3, 2011, Pages 425-431, ISSN 0034-5288. Disponível: <<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.07.004>>. Acesso: 06/09/2024



RIBEIRO, Marcos Borges, Avaliação da imunoreatividade de soros caninos a dois extratos solúveis de *Brucella canis* - Salvador, 2003. 66 f. ; il. Disponível em:

https://repositorio.ufba.br/bitstream/ri/21085/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o_IC_S_%20Marcos%20Borges%20%20Ribeiro.pdfv. Acesso: fev. 2024.

RODRIGUES et al. Brucelose canina. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal* (v.10, n.4) p. 870 – 888, out – dez. 2016.

RODRIGUES, Ramon Tadeu Galvão Alves et al. Brucelose canina: uma revisão prática para o clínico veterinário de pequenos animais. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal* (v.16, n. 2) p. 1 – 18 abr – jun. 2020.

ROOP II, Martin R. et al. Survival of the fittest: how *Brucella* strains adapt to their intracellular niche in the host. *Med Microbiol Immunol* 198, 221–238 (2009). Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s00430-009-0123-8>.> Acesso: Jan 2024.

SALGADO, Vanessa Riesz. Avaliação das técnicas de cultivo microbiológico e soroaglutinação rápida em cartão com e sem 2-Mercaptoetanol no diagnóstico da Brucelose Canina. 2006. 114. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2006. Disponível em : <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/581c412f-20b2-44fe-b624-612ba98cae02/content>. Acesso: Jan. 2024.

SANTOS, Delcivan Lima dos. Levantamento sorológico de *Brucella canis* utilizando o ELISA indireto em amostras de cães do município de Cruz das Almas - Bahia, Brasil. TCC – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2017.

SANTOS, L. G. dos .; MOMESSO, E. O. B. .VEIGA, G. A. L. D. .; BRUNATO, C. L. . Uveíte anterior como manifestação clínica isolada de brucelose em cão. *Revista Multidisciplinar em Saúde*, [S. 1.], v. 2, n. 3, p. 132, 2021. DOI: 10.51161/rem/2395. Disponível em: <https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rem/article/view/2395>. Acesso em: 19 jan. 2024.

SANTOS, Renato L. et al. Brucelose canina: uma atualização. *Front. Vet. Sci.*, 02 de março de 2021. Seg. Reprodução Animal - Teriogenologia Volume 8 – 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.594291>. Acesso em: 29 jan. 2024.

SILVA et al. Frequência de aglutininas anti-brucella canis em cães no município de Murici, estado de Alagoas, nordeste do Brasil. *Environ. Smoke*. v. 3, n. 2,

2019. Disponível em: <https://doi.org/10.32435/envsmoke.20192301-08>. Acesso: Jan. 2024.

SILVEIRA et al. Brucelose canina: uma abordagem clínica. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal* (v.9, n.2). 253-266. 2015.

Soares A. N., Brandão E. C., Cunha G. F., Scherrer L. R., Precivale M., Strassmann P. G., Assis S. R. L. (2012) - MANUAL DE CONDUTAS SBOC – Direitos reservados sboc - Capítulo 5 – Artigos sobre Testes Diagnósticos.

SOUZA, T. D. de et al. (2018). Tissue distribution and cell tropism of *Brucella canis* in naturally infected canine fetuses and neonates. *Sci Rep*, 8(1), 7203. Publicado em 8 de maio de 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25651-x>.

SPINK, W. W., & MORISSET, R. Epidemic canine brucellosis due to a new species: *Brucella canis*. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 81, 43-50. 1970. PMID: 5535427; PMCID: PMC2441019.

SUZUKI, Erika Yuri et al. BRUCELOSE CANINA: Revisão de Literatura. *Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária*. Ano VI. Nº 10. Jan 2008. Disponível em: https://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/pxy8gviBx4cctx1_2013-5-29-10-53-41.pdf. Acesso: Jan. 2024.

TD, SOUZA et al. Tissue distribution and cell tropism of *Brucella canis* in naturally infected canine fetuses and neonates. *Sci Rep*. 2018. 8:7203. Doi: 10.1038/s41598-018-25651-x.

USDA. Canine Brucellosis: *Brucella canis* [monograph on the Internet] Ames, Iowa: The Center for Food Security and Public Health. October, 2015. Disponível em: https://www.aphis.usda.gov/animal_welfare/downloads/brucella_canis_preventio_n.pdf. Acesso em: 19 jan. 2024.

VAN DIJK, M. A. Marloes et al. Transboundary spread of *Brucella canis* through import of infected dogs, The Netherlands, November 2016–December 2018. *Emerg Infect Dis*, 27, 1783–1788. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid2707.201238>. Acesso: Jan. 2024.

WALDROP, S. G., & SRIRANGANATHAN, N. Intracellular invasion and survival of *Brucella neotomae*, another possible zoonotic *Brucella* species. *PLOS ONE*, 14(4), e0213601. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213601>. Acesso: fev. 2024.

WANKE, M. M. Canine Brucellosis. *Animal Reproduction Science*, v. 82, n. 83, p. 195 - 207, 2004.