

**UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO – UNISA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

CAMILLA BERNILS MAGANHA

BRUCELOSE CANINA: REVISÃO DE LITERATURA

São Paulo

2012

CAMILLA BERNILS MAGANHA

BRUCELOSE CANINA: REVISÃO DE LITERATURA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado para obtenção do título de
Bacharel em Medicina Veterinária da
Universidade de Santo Amaro, sob a
orientação do Prof. Dr. Celso Martins Pinto.

São Paulo

2012

CAMILLA BERNILS MAGANHA

BRUCELOSE CANINA: REVISÃO DE LITERATURA

Monografia apresentada para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Santo Amaro- UNISA sob orientação do Prof. Dr. Celso Martins Pinto.

Data de Aprovação: 12 / 12 / 12

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Celso Martins Pinto (Orientador)

Prof^a. Dra. Acacia Orieth Elias

CONCEITO FINAL: _____

À minha família, amigos e, principalmente aos meus animais: Melissa, Michelli, Kyra, Balu, Mel, Miu, Pretinha, Motoka, Salém, Letícia, Coalinha, Napão, Djed, Jullie, Vaquinha, Lalá, Bebê. São muito importantes para mim, e sempre que precisei me deram forças para continuar

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Martha Faria Bernils e Roberto Maganha Jr., meus irmãos Marianna Bernils Maganha e Felipe Bernils Maganha, meus avós Olga Faria Bernils e José Maria de Castro Bernils, e toda minha família, pelo apoio, confiança, motivação, e por terem possibilitado que eu realizasse esse sonho.

Aos meus avós Carmem e Roberto Maganha (in memoriam), por todo carinho e cuidados. Fazem muita falta.

Às amigas Brunna Duarte Braz de Oliveira e Carla Maria Girardi Barbosa, pela convivência e por tudo que me ensinaram esses anos todos, tanto na esfera profissional quanto na pessoal.

À amiga Helena Guarascio Rodrigues, por todos os anos de convivência, pela paciência, aventuras, noites em claro conversando e companheirismo nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador Prof. Dr. Celso Martin Pinto, por ter me aceito como orientada e sobretudo por me ensinar a ser uma pessoa melhor.

À todos os professores do curso de Medicina Veterinária, pela paciência, pelo aprendizado. Com certeza há um pouco de cada um de vocês em mim, e em todos os alunos da turma XIII.

À todos meus colegas de curso pela convivência e ajuda, e por partilharem dos momentos de aflição, angústia e conquistas.

RESUMO

A brucelose canina é uma enfermidade infecto-contagiosa cujo agente etiológico são as bactérias do gênero *Brucella*, em especial a *Brucella canis*. É de distribuição mundial e constitui um problema em saúde pública. Acomete os cães, canídeos silvestres e o homem, e é caracterizada por aborto no terço final de gestação, epididimite, prostatite, atrofia testicular uni ou bilateral e dermatite de bolsa escrotal. Manifesta-se no homem sob a forma de febre, dermatite, fadiga linfadenopatia e ocorre principalmente em laboratoristas, tratadores de canis e em proprietários que tem contato com cães infectados. Para o diagnóstico são mais usados os métodos sorológicos, mas também são empregadas a cultura e isolamento, e a detecção molecular. O tratamento é baseado em antibioticoterapia, mas não apresenta resultados satisfatórios devido à grande resistência do agente à vários fármacos, bem como sua persistência intracelular.

Palavras-chave: Brucelose canina, *Brucella canis*, aborto canino.

ABSTRACT

Canine brucellosis is an infectious disease whose causative agent is bacteria of the genus *Brucella*, specially *Brucella canis*. It is a worldwide distribution and public health problem. It affects dogs, wild canids and humans, and is characterized by the abortion in the third semester of gestation, epididymitis, prostatitis, testicular atrophy and unilateral or bilateral scrotal dermatitis. It is manifested in humans as fever, dermatitis, fatigue, lymphadenopathy and it occurs specially in laboratory workers, canis handlers and owners who had contact with infected dogs. For diagnosis are the most commonly used serological methods, but are also employed its isolation and molecular detection. The treatment is based on antibiotics, but they may not present satisfactory results due to the big resistance of the agent to several drugs, as well as its intracellular persistence.

Keywords: Canine brucellosis, *Brucella canis*, canine abortion.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Demonstração da <i>Brucella canis</i> pela coloração de Gram.....	11
FIGURA 2 – Colônias de <i>Brucella canis</i> desenvolvidas em ágar-sangue ovino a 5%.....	12
FIGURA 3 – Feto de cadela da raça pug abortado por infecção por <i>Brucella canis</i>	20
FIGURA 4 – Orquite e Epididimite de animal com diagnóstico positivo para Brucelose canina.....	21
FIGURA 5 – Orquite e Epididimite causadas por <i>Brucella canis</i>	22

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 AGENTE.....	10
2.1.1 Classificação taxonômica.....	10
2.1.2 Características morfológicas e bioquímicas.....	11
2.1.3 Características de crescimento em meio de cultivo	12
2.1.4 Resistência.....	13
2.2 HISTÓRICO	13
2.3 EPIDEMIOLOGIA	14
2.3.1 Zoonose	16
2.3.2 Locais de Infecção.....	18
2.4 PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS	19
2.5 RECURSOS DIAGNÓSTICOS	22
2.5.1 Sorologia	23
2.5.2 Métodos Bacteriológicos.....	25
2.5.3 Detecção Genética.....	26
2.6 TRATAMENTO	27
2.7 PREVENÇÃO E CONTROLE.....	28
3 CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

Os distúrbios reprodutivos em cães assumem um importante papel na clínica veterinária, uma vez que acometem muitos animais. Dentre as afecções infecto-contagiosas que podem afetar a saúde reprodutiva desses animais, podemos citar a brucelose.

A brucelose é uma doença infecto-contagiosa crônica que tem como agente etiológico as bactérias do gênero *Brucella*. Essas são bactérias gram-negativas, em forma de cocobacilos, pequenas, não capsuladas, aeróbias, intracelulares facultativas e não formadoras de esporos.

Atualmente são reconhecidas dentro do gênero *Brucella*: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. neotomae* e *B. ovis*. A *Brucella melitensis* acomete ovinos e caprinos, e causa infecções geralmente severas em humanos; a *B. suis* acomete os suínos, e alguns biovares também acometem bovinos, lebres, roedores e ungulados silvestres; a *B. abortus* infecta bovinos e bubalinos; a *B. ovis* acomete ovinos e *B. canis* é o principal agente etiológico da brucelose canina.

Nos canídeos, a infecção pode se dar pela *Brucella abortus*, *B. canis*, *B. suis* e *B. melitensis*, sendo a infecção por *B. canis* a mais frequente. A Brucelose é responsável, principalmente, por problemas reprodutivos como abortamentos, falhas de concepção, orquite, epididimite e infertilidade.

A importância de se estabelecer a ocorrência da brucelose canina está no fato de que ela acarreta prejuízos ao criador de cães e, principalmente, o caráter zoonótico da brucelose canina por *B. canis* deve ser considerado devido à relação da população canina com os seres humanos.

O presente trabalho procura refletir as noções que a apresentante adquiriu na Graduação e tem por objetivo disseminar informações sobre a Brucelose canina, contribuindo para ampliar o conhecimento sobre essa enfermidade.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 AGENTE

2.1.1 Classificação taxonômica

Para fins taxonômicos, todas as espécies de *Brucella* devem ser classificadas como *Brucella melitensis*, conforme estudos de hibridização do DNA, que têm mostrado que o gênero contém somente uma espécie (QUINN et al., 2005).

A posição taxonômica do gênero *Brucella* entre as bactérias gram-negativas ainda não se encontra definida. Apesar de propostas alternativas, o Subcomitê Internacional de Taxonomia mantém a existência de suas espécies dentro do gênero *Brucella* (VERONESI, 2005).

Classicamente, o gênero *Brucella* continha seis espécies, mas continua evoluindo. Atualmente, novas espécies foram incluídas. Cada uma das espécies possui seus hospedeiros preferenciais: *B. abortus* (bovinos); *B. melitensis* (caprinos e ovinos); *B. suis* (suínos); *B. canis* (caninos); *B. ovis* (ovinos); *B. neotomae* (rato do deserto, *Neotomae lepida*); *B. microti* (camundongo do campo, *Microtus arvalis*); *B. ceti* (cetáceos); *B. pinnipedialis* (penípedes) e a *B. inopinata* (homem). Todas são importantes patógenos para os animais (domésticos e silvestres) e o homem, causando uma doença que é denominada genericamente de brucelose. Exceto a *B. neotomae* e a *B. ovis*, todas as demais são capazes de infectar o homem. Novas espécies como *B. pinnipedialis* dos penípedes; a *B. ceti* dos cetáceos e a *B. microti* do roedor *Microtus arvalis*, e a *B. inopinata* isolada do homem foram incluídas recentemente no gênero (GOMES, 2012).

Os sorotipos mais patogênicos para os cães são *B. abortus* e *B. canis*, implicadas como causadoras de transtornos crônicos ou subclínicos de difícil diagnóstico pela similaridade com várias outras doenças (GUIMARÃES et al., 2000).

2.1.2 Características morfológicas e bioquímicas

As espécies de *Brucella* são pequenas bactérias Gram-negativas (0,6 x 0,6 a 1,5), cocobacilares e imóveis. Como não descoram pelo ácido acético a 0,5% na técnica de coloração de Ziehl-Neelsen modificada (ZNM), são classificadas como ZNM-positivos (QUINN et al., 2005).

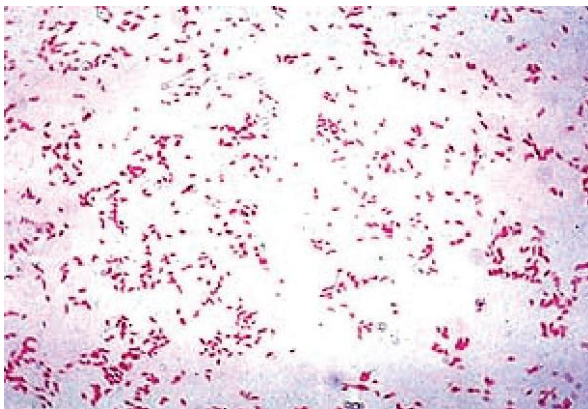


Figura 1 - Demonstração da *Brucella canis* pela coloração de Gram
Fonte: Revista CFMV- n° 31 - Janeiro/Fevereiro/Março/Abril de 2004

Encontram-se em geral isolados e, em menor frequência, aos pares, unidos pelas extremidades ou em pequenos grupos. Não formam cápsulas, esporos ou flagelos. Sua respiração é aeróbia, mas algumas cepas requerem um complemento de 5 a 10% de CO₂ para seu crescimento (VERONESI, 2005).

Todas as espécies de *Brucella* são urease-positivas, exceto *B. ovis* e *B. neotomae* (QUINN et al., 2005).

As espécies de *Brucella* são diferenciadas pela característica colonial, por testes bioquímicos, pelos requerimentos culturais específicos e pela inibição do crescimento por corantes (QUINN et al., 2005).

Apresentam metabolismo fundamentalmente oxidativo, com discreta ou nenhuma ação fermentativa sobre os hidratos de carbono em meios convencionais. São catalase-positivos, em geral oxidase e redução de nitratos-positivos, e podem reduzir os nitritos. Produzem SH₂ e hidrolisam a uréia de forma variável segundo a cepa. Não

produzem indol nem liquidificam a gelatina. São Voges-Proskauer e vermelho de metila negativos e não utilizam o citrato (VERONESI, 2005).

2.1.3 Características de crescimento em meio de cultivo

A temperatura ótima para as brucelas é de 37 °C. O crescimento ocorre entre 20 °C a 40 °C e o pH ótimo é entre 6,6 a 7,4; catalase positiva; geralmente oxidase positiva. A maioria das cepas requer meios de cultivo seletivo e complexo, contendo aminoácidos, tiamina, nicotinamida e íons de magnésio, como ágar *Brucella* (enriquecido com 5% de sangue ovino), ágar-fígado, ágar-chocolate, ágar-fígado-coração e meios com tripticase. Algumas cepas podem ser induzidas ao crescimento em meio mínimo, contendo sais de amônio como única fonte de nitrogênio. O crescimento é promovido pela adição de soro ou sangue, entretanto hemina (Fator X) e nicotinamida adenina dinucleotídio (NAD Fator V) não são essenciais (GOMES, 2012; VERONESI, 2005).

Muitas amostras requerem CO₂ suplementar para seu crescimento, especialmente no cultivo primário (GOMES, 2012).

O crescimento é demorado, onde em dois a três dias são observados colônias com 1,0-1,5 mm de diâmetro, não hemolíticas, translúcidas, brilhantes, convexas e de bordos arredondados e bem definidos e coloração levemente leitosa, podendo adquirir um tom acinzentado quando velhas (AZEVEDO et al., 2004).

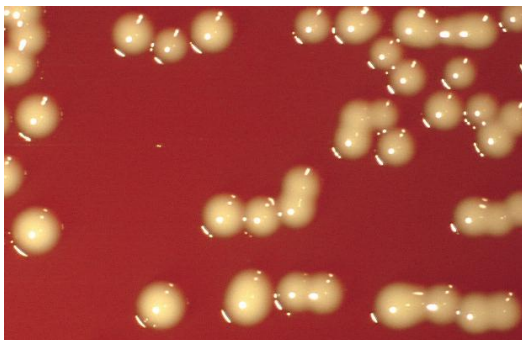


Figura 2 - Colônias de *Brucella canis* desenvolvidas em ágar-sangue ovino a 5%
Fonte: Revista CFMV- n° 31 - Janeiro/Fevereiro/Março/Abril de 2004

Em isolamento primário, colônias de *B. abortus*, de *B. melitensis* e de *B. suis* ocorrem como formas lisas; são pequenas, brilhantes azuladas e translúcidas após incubação de três a cinco dias. As colônias tornam-se opacas com a idade. Ao contrário, os isolados primários de *B. ovis* e de *B. canis* sempre ocorrem na forma rugosa. Essas colônias rugosas são secas, amareladas, opacas e friáveis (QUINN et al., 2005).

2.1.4 Resistência

As espécies do gênero *Brucella* são bastante sensíveis aos desinfetantes comuns, à luz e a dessecação. Em cadáveres ou tecidos contaminados enterrados, podem resistir vivas por um a dois meses em clima frio, mas morrem em 24 horas no verão ou em regiões quentes (CORRÊA; CORRÊA, 1992). Sobrevive ao congelamento e descongelamento. Em condições propícias, sobrevive por até quatro meses no leite, urina, água e solo úmido. A maioria dos desinfetantes ativos contra outras bactérias gram-negativas destrói *Brucella* (HIRSH; ZEE, 2003).

As espécies são inativadas pela pasteurização entre 10 e 15 segundos; são destruídas rapidamente pelos desinfetantes comuns como o cresol 3%; hidróxido de sódio a 2%; compostos de ortofenóis 3-5%; mercuriais e álcool 70% (GOMES, 2012).

Muito sensíveis ao calor, são destruídas em 10 minutos quando colocadas a 63 °C. Também são muito sensíveis ao álcool a 96° e ao mertiolate a 1:110.000 (VERONESI, 2005).

2.2 HISTÓRICO

A brucelose foi descrita pela primeira vez por Marston, em meados de 1863, com relato de enfermidade que denominou “febre gástrica remitente do Mediterrâneo” (CORRÊA; CORRÊA, 1992).

Em 1887, foi isolada a primeira espécie do gênero *Brucella* pelo oficial e médico Dr. David Bruce, em amostras de baço colhidas na necropsia de militares que morreram vítimas dessa enfermidade nas costas do Mediterrâneo, chamada de Febre de Malta. O

organismo foi inicialmente denominado *Micrococcus melitensis* e posteriormente de *Brucella melitensis* (GOMES, 2012).

CARMICHAEL (1966), nos EUA, descreveu pela primeira vez *B. canis* como agente causal de abortamento em fêmeas da raça Beagle, isolando o microorganismo de placenta, do tecido fetal e de descargas vaginais dos animais.

No Brasil, a primeira identificação de *B. canis* ocorreu em Belo Horizonte, MG, em 1976, a partir de isolamento do agente do sangue e de secreção vaginal de uma cadela com histórico de abortamento recente (GODOY et al., 1977).

Dados sobre a ocorrência da brucelose canina causada por *B. canis* no Brasil são pontuais e em sua maioria baseados em exames sorológicos. Observa-se uma ocorrência variando entre 1,32% e 72,7%, de acordo com a região, a população de cães examinada e o teste de diagnóstico empregado (KEID, 2006).

2.3 EPIDEMIOLOGIA

A brucelose canina, causada por *B. canis*, tem sido relatada nos Estados Unidos, no Japão e nas Américas Central e do Sul. Todavia, a distribuição da doença pode ser mais extensa do que correntemente reconhecida devido a dificuldades com o diagnóstico (QUINN et al., 2005).

Quinn et al., (2005) descreve que as brucelas têm predileção por órgãos reprodutivos de animais machos e fêmeas sexualmente maduros, e que cada espécie de *Brucella* tende a infectar uma espécie animal em particular. Animais infectados servem como reservatório de infecção, que persiste indefinidamente. Os microrganismos eliminados por animais infectados podem permanecer viáveis em meio ambiente úmido por meses

A *B. canis* parasita um limitado número de espécies. Cães domésticos e canídeos selvagens são os mais susceptíveis. Os bovinos, suínos e ovinos são altamente resistentes à infecção. Gatos têm sido infectados experimentalmente, mas são relativamente resistentes, apresentando uma bacteremia transitória. Cobaias, ratos e primatas não-humanos, também são suscetíveis à infecção experimental. Existem casos

humanos por contato com cães infectados ou contaminação laboratorial (CARMICHAEL; GREENE, 1998; CARMICHAEL, 1990).

Corrêa e Corrêa (1992) relatam que o sexo, estação do ano e o clima não têm influência na apresentação da doença, porém a idade sim, pois são muito mais infectantes para animais em maturidade sexual, ainda que possa ocorrer em animais jovens.

A *Brucella canis* infecta seu hospedeiro suscetível penetrando as membranas mucosas, especialmente as da cavidade oral, vaginal e conjuntiva. A dose infectante mínima por via oral para os cães é de aproximadamente 10^6 bactérias, e a dose conjuntival é de $10^4/10^5$ microorganismos. Por conter uma maior concentração de microorganismos, corrimentos vaginais e sêmen são as fontes mais prováveis de infecção por contaminação da mucosa. (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

A transmissão natural da brucelose canina ocorre por várias rotas. O cão adquire a *B. canis* através da ingestão de restos de aborto ou alimentos contaminados com urina, sêmen ou descargas vaginais provenientes de animais infectados. A urina de animais infectantes possui alta concentração de bactérias por até oito a 12 semanas após infecção. As cadelas infectadas podem transmitir a *B. canis* durante o cio, cruza, ou após o aborto através do contato oronasal com suas descargas vaginais. A transmissão é mais comum por contato oronasal com materiais abortados, pois eles contêm até 10^{10} microorganismos/mL. A eliminação de *B. canis* pode ocorrer por períodos de até 6 semanas após o aborto. O leite das cadelas infectadas contém concentrações mais baixas de microorganismos e parece ser menos importante na transmissão da infecção para filhotes sobreviventes, a maioria já foi infectada no útero ou congenitamente. (CARMICHAEL; GREENE, 1998; CORRÊA; CORRÊA, 1992)

O sêmen e a urina têm sido considerados como fontes de infecção de cães machos que abrigam o microorganismo na próstata e no epidídimo. A taxa de isolamento de *B. canis* do sêmen de cães infectados é geralmente elevada nas primeiras 6 a 8 semanas após a infecção. A eliminação intermitente do microorganismo em pequenas quantidades foi notada por até 60 semanas após a infecção, e pode continuar durante pelo menos 2 anos. A excreção urinária começa algumas semanas após o início da bacteremia e continua durante pelo menos três meses. A propensão dos machos em

eliminar o organismo na urina está provavelmente relacionada com a sua localização na próstata e no epidídimo, que estão em estreita relação com a bexiga. A castração ajuda a reduzir este risco. (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

Germano et al. (1987) ressaltam que, segundo alguns pesquisadores, pode haver a participação do *Rhipicephalus sanguineus* como via de transmissão de *B. canis*, embora não comprovada experimentalmente. Outras formas de transmissão são a congênita e por inalação de aerossóis provenientes de material abortado (VARGAS et al., 1996).

Meios alternativos de transmissão ocorrem com menor frequência em circunstâncias naturais. A transmissão através de fômites tem sido relatada após vaginoscopia, transfusão sanguínea, inseminação artificial, e da utilização de seringas contaminadas. A *B. canis* tem uma vida relativamente curta fora do cão e é facilmente inativada por desinfetantes comuns. (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

Cães de qualquer idade são susceptíveis à *Brucella canis*. Quanto à caracterização racial dos animais, prevalecem cães sem raça definida. Entre os cães de raça definida, predominam os Pastores e Poodles (SOUZA et al., 2002).

A brucelose é endêmica, e não há letalidade nem mortalidade, a não ser que se computem os fetos abortados ou neonatos doentes, que vêm a morrer; o animal adulto infectado não morre devido à enfermidade. A morbidade é bastante variável, em relação a um lote de animais, o índice geralmente varia entre 10 e 50% (CORRÊA; CORRÊA, 1992).

2.3.1 Zoonose

Os humanos são suscetíveis à infecção por *B. abortus*, *B. suis*, *B. melitensis* e, raramente por *B. canis*. A transmissão para humanos ocorre por contato com secreções ou excreções de animais infectados. As rotas de entrada incluem lesões de pele, inalação e ingestão. Leite in natura e produtos feitos com leite não-pasteurizado são importantes fontes de infecção. Acidentes laboratoriais são responsáveis por algumas infecções em humanos (QUINN et al., 2005).

Infecções severas ocorrem por *B. melitensis* (febre de malta) e por *B. suis* biótipos 1 e 2. As infecções em humanos por *B. abortus* são moderadamente graves, enquanto aquelas por *B. canis* tendem a ser moderadas (QUINN et al., 2005).

A brucelose pode se apresentar como infecção ou como doença. A infecção brucélica, observada com grande frequência em indivíduos que se expõem por sua profissão, se caracteriza pela presença de anticorpos séricos antibrucela, na ausência de sintomatologia atual ou pregressa (VERONESI, 2005).

A brucelose (doença) pode se manifestar como quadros agudos, subagudos, ou crônicos, em função da duração da doença, isto é, do tempo que decorre entre o aparecimento dos sinais e sintomas e a procura do médico. Nas formas agudas, a duração da doença é de até dois meses, nos subagudos se encontra entre dois meses e um ano e nos crônicos ultrapassa este último limite (VERONESI, 2005).

A brucelose em humanos, conhecida como febre ondulante, apresenta-se como pirexia flutuante, mal-estar, cefaleia, sudorese, anorexia, emagrecimento, fadiga e dores musculares e articulares. Seguem-se, em frequência decrescente, astenia, esplenomegalia, linfadenopatia, dores nas costas, hepatomegalia e rigidez de nuca. Abortos não são característicos para infecções em humanos. Osteomielite é a complicação mais comum (QUINN et al., 2005; VERONESI, 2005).

Em pacientes com brucelose, foram documentadas leucopenia, pancitopenia, anemia hemolítica microangiopática e trombocitopenia severa. Em algumas ocasiões, essas anomalias hematológicas podem predominar em uma fase precoce da infecção, mascarando a etiologia infecciosa da doença e simulando uma enfermidade hematológica primária (KONEMAN et al., 2001).

As espécies de *Brucella* também podem infectar o trato genitourinário dos humanos, devido à consequência de infecção sistêmica, podendo causar epididimite, orquite e granuloma renal. Embora esses microrganismos provoquem aborto nos animais infectados secundariamente à sua localização na membrana corioamniótica da placenta, são poucas as evidências que sustentam a participação dessas bactérias no aborto espontâneo humano. Em raros casos, porém, os microrganismos podem ser isolados a partir do líquido amniótico e dos tecidos placentários de mulheres com brucelose (KONEMAN et al., 2001).

As manifestações psíquicas são frequentes e importantes, predominando irritabilidade e nervosismo (VERONESI, 2005).

Ao exame físico, encontra-se hipertrofia de um ou mais órgãos em que comparece o sistema fagocítico mononuclear. Assim, adenopatia, hepatomegalia e/ou esplenomegalia são observados. A linfadenopatia, presente em cerca de 15% dos casos, é sistêmica e os linfonodos podem apresentar sinais inflamatórios, mas em geral não supuram (VERONESI, 2005).

Além das manifestações clínicas referidas, outros órgãos, aparelhos ou sistemas podem estar comprometidos, constituindo complicações raras da brucelose como artrite, meningite e endocardite (VERONESI, 2005; GOMES, 2012).

2.3.2 Local (is) da infecção

Durante a fase de bacteremia ocorre disseminação bacteriana por todo o organismo do hospedeiro, mas preferencialmente para tecidos ricos em esteróides gonadais e em células reticuloendoteliais como baço, fígado, linfonodos, medula óssea, útero de fêmeas gestantes, próstata, epidídimos e testículos (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

A maioria dos cães infectados não apresenta sinais clínicos perceptíveis, mostrando-se clinicamente normais. As manifestações clínicas indicativas da enfermidade não são exuberantes, mas associadas com o trato reprodutor. O sinal clínico primário na fêmea infectada é o aborto, podendo ser acompanhado ou não de mortes embrionárias ou natimortos. Nos machos, os sinais clínicos mais comuns são epididimite, orquite e/ou atrofia testicular e dermatite de escroto. Outras manifestações podem incluir: linfadenites, esplenites, lesões oculares, discoespondilites e osteomielites (GOMES, 2012).

A fase de bacteremia pode levar a lesões inflamatórias nos discos intervertebrais (discoespondilite), no globo ocular (uveíte) e nos rins (glomerulonefrite), mas o mais importante, é o que atinge o trato reprodutor de machos e fêmeas prenhes (GOMES, 2012).

2.4 PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS

A sua patogenia é explicada em parte, pela capacidade de evitar os mecanismos de defesa do hospedeiro, devido à sua resistência celular. O espectro patológico depende de inúmeros fatores, como estado imunológico do hospedeiro, presença de enfermidades subjacentes e espécie do microrganismo infectante (KONEMAN et al., 2001).

A brucelose canina é uma infecção sistêmica, de caráter crônico, caracterizada pela ocorrência de bacteremia prolongada. A infecção pode ocorrer através das membranas mucosas (oral, ocular, nasal e genital). Após a penetração no organismo do hospedeiro, a *Brucella canis* é fagocitada por macrófagos e outras células fagocitárias, sendo capaz de sobreviver e multiplicar-se no interior destas células. Posteriormente, as brucelas são transportadas aos linfonodos regionais provocando linfadenopatia periférica. (KEID, 2006).

Durante a fase de bacteremia ocorre disseminação bacteriana por todo o organismo do hospedeiro, mas preferencialmente para tecidos ricos em esteróides gonadais e em células reticuloendoteliais como baço, fígado, linfonodos, medula óssea, útero de fêmeas gestantes, próstata, epidídimos e testículos. Outros sítios de localização são os rins, circulação dos discos intervertebrais, meninges e câmara anterior dos olhos (CARMICHAEL; GREENE, 1990).

A bacteremia aparece entre 1 a 4 semanas, após a infecção, podendo durar seis meses e, algumas vezes, podendo persistir por 60 meses. A fase de bacteremia é acompanhada de sinais clínicos como febre discreta, linfadenopatia discreta e astenia de inconstante a moderada. A fase de bacteremia pode levar lesões inflamatórias nos discos intervertebrais (discoespondilite), no globo ocular (uveíte) e nos rins (glomerulonefrite), mas o mais importante, é que o agente atinge o trato reprodutos de machos e fêmeas prenhas (GOMES, 2012).

A resposta imune é predominantemente celular, assim como em outros microorganismos intracelulares. Uma elevação nos níveis de anticorpos séricos pode ocorrer, porem estes não são protetores e apresentam pouca influencia na redução da bacteremia e no número de organismos teciduais (CARMICHAEL; GREENE, 1990).

Apesar da infecção sistêmica, os animais raramente apresentam-se clinicamente comprometidos. A febre não ocorre comumente e, com exceção dos machos que normalmente têm epididimite, a maioria das infecções não é diagnosticada pela história e exame físico de rotina. Pelagem seca e sem brilho, perda do vigor, letargia, anorexia e intolerância ao exercício são achados. Fêmeas não prenhes não mostram sinais de doença que não linfadenomegalia, que ocorre em ambos os sexos (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

Os sinais clínicos envolvem normalmente distúrbios reprodutivos em animais sexualmente maduros. Nas fêmeas, o sinal mais importante é aborto após 45-55 dias de gestação em cerca de 75% dos casos. Morte embrionária precoce e reabsorção, ou aborto 10-20 dias após o acasalamento, pode ocorrer em alguns casos. Estas podem passar despercebidas e a queixa principal pode ser de "incapacidade de conceber". Os fetos abortados apresentam-se parcialmente autolisados e com lesões características de infecção bacteriana generalizadas: edema subcutâneo, congestão e hemorragia em região subcutânea abdominal, fluido peritoneal sero-sanguinolento com infiltrado de células inflamatórias, lesões degenerativas no fígado, baço, rins e intestinos (CARMICHAEL; GREENE, 1998; CARMICHAEL 1990; CARMICHAEL;SHIN, 1999).



Figura 3 - Feto da raça pug abortado por infecção por *B. canis*
Fonte: Site Crianza canina.

A maioria dos filhotes que nascem vivos morrem dentro de algumas horas ou dias, mas aqueles que sobrevivem ou que estão infectados, como recém-nascidos

costumam ter linfadenomegalia periférica generalizada como principal manifestação clínica da doença até atingirem a maturidade sexual. Esses filhotes costumam ter hiperglobulinemia persistente, e alguns podem ter febre transitória, leucocitose, ou convulsões como as manifestações sistêmicas de suas infecções (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

Tal como acontece com brucelose em outras espécies, infecções com *B. canis* não interferem com ciclos estrais normais. Uma alta proporção de fêmeas que o abortaram podem ter ninhadas normais, e algumas cadelas infectadas podem ter falhas reprodutivas intermitentes (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

Nos machos, a doença é caracterizada pelo mau desempenho reprodutivo e / ou epididimite. O exame físico geralmente revela epididimite, atrofia de um ou ambos os testículos e dermatite escrotal. O volume do ejaculado é diminuído, e o sêmen de machos infectados geralmente contém um grande número de espermatozoides anormais e células inflamatórias, especialmente durante os primeiros 3 meses de infecção. Anormalidades incluem espermatozoides imaturos, caudas dobradas, gotas citoplasmáticas, e cabeças separadas. Machos cronicamente infectados podem ter azoospermia (CARMICHAEL, 1990).



Figura 4 - Orquite e Epididimite de animal com diagnóstico positivo para Brucelose canina
Fonte: CD Atlas de Alergia e Dermatologia do CEPAV Laboratórios



Figura 5 - Orquite e Epididimite causadas por *Brucella canis*
 Fonte: : Revista CFMV- n° 31 - Janeiro/Feveireiro/Março/Abril de 2004

Cães cronicamente infectados podem ter endometrite subaguda crônica, prostatite granulomatosa, atrofia testicular e fibrose, ou meningite. Discoespondilite não é uma característica incomum de infecção crônica, e uveíte anterior tem sido vista em alguns cães cronicamente infectados. Outras patologias oculares incluem iridociclite granulomatosa, retinite exsudativa e edema de córnea (CARMICHAEL, 1990).

2.5 RECURSOS DIAGNÓSTICOS

O diagnóstico clínico da infecção por *B. canis* apresenta várias dificuldades. Nos primeiros estágios, os animais infectados podem não apresentar sinais clínicos da doença ou esses podem não ser claramente identificados. Os sinais clínicos apresentados por animais acometidos não são patognomônicos, podendo estar presentes em uma grande variedade de doenças. Os animais apresentam prolongada bacteremia sem febre, que pode durar anos; perda no brilho do pelo, linfadenopatia generalizada e inapetência podem ser notadas em alguns animais (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

Achados clínicos tais como: abortamento no terço final de gestação, falhas na concepção, epididimite, atrofia testicular e dermatite escrotal podem levar a suspeita clínica de brucelose, no entanto, apenas com o exame clínico a doença não pode ser confirmada (CARMICHAEL, 1990; JOHNSON; WALKER, 1992; CARMICHAEL; GREENE, 1998).

O diagnóstico da brucelose canina é rotineiramente realizado por meio de testes sorológicos (métodos indiretos) e pelo isolamento e identificação bacteriológica (métodos diretos) (VIEIRA, 2004). O método direto mais comumente empregado é o isolamento e posterior identificação do agente por observação de características morfológicas e metabólicas, sorotipagem e fagotipagem. Os métodos diretos possuem grande especificidade, pois permitem detectar a presença da bactérias na amostra testada (ALTON et al., 1988).

Vários testes sorológicos têm sido usados devido à facilidade de execução, rapidez de processamento e possibilidade de realização de um grande número de amostras, porém, nenhum deles é o ideal pois não são específicos para *B. canis* e podem resultar em falso-positivo. no sorodiagnóstico da brucelose canina, mas nenhum é o ideal (CARMICHAEL, 1990; CARMICHAEL; GREENE, 1998).

Atualmente, existem também outros métodos propostos para detecção da infecção no cão, incluindo ensaios de imunocromatografia (KIM et al., 2007) e método de Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) (KEID et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2010).

Cuidados devem ser tomados durante o manuseio e a coleta de materiais suspeitos de infecção por *B. canis*, pois a brucelose canina é uma zoonose de transmissão por aerossóis, ingestão e contato com mucosas ou soluções de continuidade. Assim, deve-se sempre utilizar material de proteção individual, como luvas, óculos, máscara, gorro e aventais (QUINN et al., 2005; SANTOS et al., 2005).

2.5.1 Sorologia

A sorologia é bastante empregada no diagnóstico da brucelose canina. Como em qualquer doença, a primeira classe de anticorpos a aparecer após a infecção é a IgM, portanto sua presença no soro indica infecção recente. Em seguida aparecem as IgG, que permanecem por longos períodos, principalmente em infecções crônicas. Como a brucelose canina é uma doença crônica, a principal imunoglobulina a ser detectada pelos testes diagnósticos é a IgG. Apesar de ser a metodologia mais difundida de diagnóstico da brucelose canina, a sorologia apresenta muitos problemas em nosso meio

principalmente ligados à disponibilidade de antígenos e kits para o diagnóstico sorológico (MINHARRO et al., 2005). Além de estarem sujeitos a erros de interpretações devido a reações cruzadas com outros microorganismos como cepas mucóides de *Pseudomonas*, *Bordetella bronchiseptica* e *Actinobacillus equuli* ou até mesmo cepas de *Brucella rugosas* (ETTINGER; FELDMAN, 1997).

Os testes sorológicos mais comuns são os testes de soroaglutinação rápida (SAR), soroaglutinação lenta (SAL) e a imunodifusão em gel de agarose (IDGA) com antígenos extraídos da parede celular. Em maior ou menor grau, todos esses testes dão reações inespecíficas (ACHA; SZYFRES, 2001). Visando aumentar a especificidade do método para detecção de anticorpos anti-*B. canis*, antes do início do teste, é adicionado 2-mercaptoetanol ao soro com o objetivo de desnaturar a IgM através da destruição de suas pontes dissulfídicas eliminando assim, a interferência inespecífica desta imunoglobulina na prova, diminuindo a percentagem de resultados falso-positivos sem que haja, perda de sensibilidade (CARMICHAEL; SHIN, 1996).

Outros métodos sorológicos que têm sido eventualmente empregados incluem contra-imunoeleforese, imunofluorescência indireta e fixação do complemento (CARMICHAEL, 1990).

A soroaglutinação rápida (SÁR) é o teste mais comumente utilizado na triagem de cães para a infecção por *B. canis*. Possui diversas vantagens sobre os outros testes diagnósticos, já que é capaz de detectar anticorpos precocemente a partir de três a quatro semanas do início da infecção (CARMICHAEL; GREENE, 1998), é um teste de fácil execução e barato, podendo ser realizado em qualquer clínica veterinária (CARMICHAEL; SHIN, 1996).

Embora seja um excelente teste de triagem, devido a ocorrência de reações falso-positivas, não deve ser considerado como teste definitivo e os resultados positivos devem ser confirmados por testes mais específicos (JOHNSON ; WALKER, 1992; CARMICHAEL, 1998).

O teste de soroaglutinação lenta (SAL) é um método semi-quantitativo que muitas vezes é utilizado para confirmar o SAR-2ME (CARMICHAEL, 1998). O SAL,

comparativamente ao SAR, é menos sensível e um pouco mais específico (JOHNSON e WALKER, 1992).

Em razão da maior dificuldade na preparação do antígeno e leitura dos resultados a IDGA não é tão facilmente utilizada quanto a SAL ou a SAR embora possua maior especificidade que estes testes (CARMICHAEL, 1990; CARMICHAEL; SHIN, 1996).

A utilização de ensaios imunoenzimáticos (ELISA) para detectar a presença de *B. canis* é altamente específico, porém menos sensível que a prova de soroaglutinação lenta para triagem de cães infectados (BERTHELOT; BASTUJI, 1996).

2.5.2 Métodos bacteriológicos

O isolamento e a identificação de *B. canis* é um método de alta especificidade diagnóstica, pois demonstra o agente etiológico da doença, mas sua sensibilidade pode ser baixa em função de vários parâmetros como eliminação intermitente da bactéria, material mal coletado e mal conservado, uso de antibióticos, etc (MINHARRO et al., 2005).

A *B. canis* pode ser isolada de diversos tecidos e secreções, como sangue, linfonodos, baço, fígado, medula óssea, próstata, urina, sêmen, fetos abortados e secreções vaginais durante o estro, no pós-aborto e pós-parto (CARMICHAEL, 1990).

A *B. canis* pode ser isolada de outros tecidos em animais bacterêmicos, tais como: linfonodos, baço e medula óssea. Quando há uveíte associada a *B. canis* o agente pode ser isolado do humor aquoso (JOHNSON ; WALKER, 1992).

A hemocultura é o meio mais prático de isolamento de *B. canis* de um cão infectado, desde que o animal não tenha recebido antibióticos. O sangue total deve ser usado para a cultura, pois os organismos são associados com a fração de leucócitos. A bacteremia é detectada 2 a 4 semanas após a infecção oronasal e, se não tratada, persiste por longos meses a anos (CARMICHAEL; GREENE, 1998; CARMICHAEL, 1990).

O sangue para isolamento deve ser coletado em heparina ou citrato de sódio a 1%. Depois de 5 a 7 dias de incubação em 10 mL de meio líquido, o caldo é espalhado ou semeado em meio sólido e examinado após 3 a 5 dias de crescimento (CARMICHAEL, 1990).

A *B. canis* cresce bem em aerobiose, em meios ricos convencionais utilizados para *Brucella* spp. Se os materiais estiverem muito contaminados, sugere-se o uso de meios enriquecidos com antibióticos (ALTON et al., 1988).

O isolamento e a identificação bacteriológica têm como desvantagem a demora para obtenção de resultados, em geral duas semanas, e também a possibilidade de gerar resultados falso-negativos devido à baixa concentração do agente nos materiais examinados, à má-conservação das amostras ou à contaminação da amostra por outros microorganismos (ALTON et al., 1988).

2.5.3 Detecção genética

Enquanto a maioria dos dados até agora tinham sido adquiridos por meio de testes de cultura bacteriana, diversos laboratórios têm desenvolvido métodos para análise direta de amostras clínicas: tecidos, sêmen, leite e sangue (BRICKER, 2002).

Desde 1987, a PCR vem sendo empregada como instrumento para o aprimoramento do diagnóstico da brucelose em diversas espécies animais e no homem, pela tendência de apresentar-se mais sensível que os métodos bacteriológicos e mais específica que as técnicas sorológicas utilizadas no diagnóstico da brucelose (QUEIPO-ORTUÑO et al., 1997)

Considerando sua rapidez de execução em relação ao cultivo bacteriológico, a PCR tem sido uma alternativa promissora ao diagnóstico direto de organismos de crescimento lento ou fastidioso (QUEIPO-ORTUÑO et al., 1997).

O processo é rápido, simples, e requer pouco trabalho manual. Embora certa atenção deva ser dada para evitar a contaminação, o método é muito confiável e,

geralmente, altamente reprodutível em qualquer laboratório devidamente equipado (BRICKER, 2002).

2.6 TRATAMENTO

A *B. canis* “in vitro” é sensível às tetraciclina; ao cloranfenicol; aos aminoglicosídeos; à rifampicina, cefalosporinas de terceira geração, ampicilina, às fluorquinolonas e às sulfamidas. Muitas linhagens apresentam resistência cruzada aos macrolídeos. (GOMES, 2012; CARMICHAEL; GREENE, 1998)

Por ser uma bactéria de localização intracelular persistente, os resultados da terapia com antibióticos são incertos. O organismo é sensível a vários antibióticos, mas a ineficácia do tratamento in vivo geralmente leva a falhas ou recaídas. Nenhum dos tratamentos é 100% eficaz. Os tecidos reprodutivos do ovário e útero e dos testículos e epidídimo devem ser removidos cirurgicamente. Além disso, infecções oculares podem exigir a enucleação dos olhos severamente afetados. (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

Uma vez instituído o tratamento, o mesmo deve ser prolongado até que não mais se obtenha sorologia positiva para *B. canis*, se isso não ocorrer no período de dois meses de terapia, a mesma deve ser interrompida e o tratamento tido como ineficaz (CARMICHAEL; GREENE, 1998)

Muitos protocolos de antibioticoterapia têm sido relatados como eficazes no tratamento da brucelose canina por *B. canis*. Megid et al. (1998) obteve 91,6% de eficácia na terapia antimicrobiana utilizando rifampicina (10 mg/kg/VO/30 dias) associada à estreptomicina (10 mg/kg/IM/21 dias). Carmichael e Greene (1998) sugerem o emprego de hidrocloreto de minociclina (12 mg/kg, IM, três vezes ao dia, por pelo menos duas semanas) associada com estreptomicina (10 mg/kg, IM, três vezes ao dia, durante a primeira semana). Carmichael, (1990) sugere ainda que os melhores resultados são obtidos com a associação de tetraciclina com estreptomicina; e que se disponível deve-se utilizar dihidroestreptomicina (10 mg / kg bid IM) nos primeiros 7

dias de tratamento, junto com tetraciclina (25 mg/kg por via oral, três vezes ao dia) durante 4 semanas e novamente utilizando estreptomicina nos últimos 7 dias de tratamento. Já Johnson e Walker (1992) relataram que um tratamento bem sucedido ocorre com a combinação de 25 mg/kg/dia de minociclina via oral durante 14 dias e de 5 mg/kg de diidroestreptomicina, IM, a cada 12 horas durante 7 dias.

O sucesso no tratamento têm sido maior nas fêmeas infectadas, provavelmente devido à maior dificuldade na eliminação de focos de infecção no trato genital masculino, especialmente na próstata (CARMICHAEL, 1990).

Devido ao tratamento não ser 100% efetivo, os animais continuam sendo fontes de infecção para outros animais e também para seres humanos. Em canis, todos os animais positivos devem ser sacrificados, a menos que haja fortes razões para ser tentado o tratamento, particularmente nos casos de animais de alto valor zootécnico. Entretanto, a decisão de tratar ou não o animal deve ser baseada numa conversa entre o proprietário e o veterinário, devido ao elevado custo, a possibilidade de falhas e ao perigo potencial para a saúde em manter animais infectados (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

2.7 PREVENÇÃO E COTROLE

O controle da brucelose canina em um canil com casos confirmados por sorologia e isolamento do organismo é difícil, demorado e angustiante para os proprietários de cães e seus veterinários. As dificuldades são agravadas se o tratamento antibiótico é instituído quando a brucelose é uma suspeita não confirmada pelo isolamento da *Brucella canis* (CARMICHAEL, GREENE, 1998).

Quando houver a suspeita da infecção por *Brucella canis* em um canil, os seguintes procedimentos devem ser seguidos: confirmação do diagnóstico, quarentena, identificação e eliminação de animais infectados e implantação de práticas para conter o avanço da doença e para a prevenção de surtos futuros (JOHNSON; WALKER, 1992).

Animais que apresentarem sintomatologia clínica compatível com a doença, devem ser submetidos à sorologia e isolamento do agente e sendo confirmada a doença, todos os animais do plantel devem ser testados. Após 30 dias, os animais suspeitos devem ser submetidos a novos testes e sendo confirmada a infecção os mesmos devem ser eliminados. Devem-se realizar testes sorológicos mensalmente em cada animal do plantel até que três testes consecutivos resultem negativos, ressalvando que animais infectados entre quatro a oito semanas podem apresentar sorologia falso-negativo (JOHNSON; WALKER, 1992).

Qualquer cão considerado infectado deve ser removido do canil e eutanasiado. Em alguns casos, os donos se recusam a eutanasiar um animal, e a castração aliada a terapia antibiótica e controle durante pelo menos 3 meses, é minimamente indicado. Pelo menos três testes (com intervalo de um mês) devem ser negativos para que o canil com infecção comprovada possa ser considerado livre da infecção (CARMICHAEL, 1990).

Procedimentos de desinfecção apropriados devem ser implementados para conter a propagação da infecção através de fômites (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

A prevenção é particularmente importante em canis comerciais e é baseada em medidas sanitárias, controle sorológico regular dos animais do canil, eliminação dos positivos, isolamento das fêmeas em parição, desinfecção sistemática do canil, quarentena antes da introdução de novos animais (BERTHELOT; BASTUJI, 1996).

Animais utilizados para reprodução devem ser testados 3 a 4 semanas antes de cada acasalamento para dar tempo para que os resultados dos testes sejam relatados e as cadelas devem ser testadas várias semanas antes de seus estros. Não devem ser usados padreadores que não tenham sido testados e certificados como negativos para brucelose (CARMICHAEL; GREENE, 1998; CARMICHAEL, 1990).

Novos animais não devem ser introduzidos no canil até que tenham demonstrado resultado negativo em dois testes de brucelose realizados com um mês de intervalo. Testes devem ser realizados em todos os animais do canil pelo menos uma vez ao ano, ou assim que distúrbios reprodutivos como abortos e falhas de concepção surjam (CARMICHAEL, 1990).

Todos os cães que deixam o canil, devem ser testados antes de retornar. Além disso, os doadores de sangue caninos devem ser testados para brucelose já que infecções foram documentadas por transfusão de sangue contaminado (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

Nenhuma vacina está disponível, e os resultados de estudos experimentais não têm sido satisfatórios. A conveniência de uma vacina é questionável, especialmente quando o teste de diagnóstico está disponível, porque uma vacina eficaz seria necessária para fornecer uma imunidade duradoura, mas não afetar o diagnóstico sorológico (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

Por tratar-se de uma zoonose, deve-se ter especial atenção quanto à manipulação de animais e material contaminado por funcionários de canis (CARMICHAEL, 1990). Desinfetantes como iodóforos e amônia quaternária podem ser utilizados na desinfecção do ambiente e equipamentos contaminados (CARMICHAEL; GREENE, 1998). Trabalhadores de laboratório devem usar sempre proteção pessoal, incluindo óculos, máscaras, luvas e roupas de proteção e somente o trabalho com o organismo em uma cabine de segurança biológica. Biohazard precauções devem ser tomadas no laboratório durante o manuseio ou pipetar amostras submetidas a testes de diagnóstico. Todos os resíduos devem ser autoclavados (CARMICHAEL; GREENE, 1998).

3 CONCLUSÃO

Em razão da complexa relação da população canina com a humana, principalmente a estreita relação entre cães e crianças, o caráter zoonótico da brucelose canina por *Brucella canis* deve ser levado em consideração. Além disso, acarreta prejuízos para o criador de cães por causar principalmente distúrbios reprodutivos nos animais sexualmente maduros. O homem tem uma maior resistência à infecção pela *Brucella canis* quando em comparação às outras brucellas, mas vários casos de infecção natural têm sido relatados.

O diagnóstico da brucelose pode ser complicado principalmente pelo fato da maioria dos animais não apresentar sinais clínicos da doença, e, quando esses estão presentes, não serem patognomônicos. Seu tratamento também nem sempre é eficaz, pois visa diminuir as chances de transmissão. Por se tratar de um microorganismo intracelular, pode ocorrer a persistência do agente e constantes recidivas.

Para o controle da doença é importante que todo animal positivo para Brucelose canina seja castrado e retirado da reprodução. Em canis, é de suma importância quando da suspeita de brucelose, testar todos os animais, promover isolamento e quarentena, identificar as fontes de infecção, eliminar os animais positivos e realizar testes sorológicos mensais.

A brucelose não é uma doença que se mantém sozinha nos humanos, pois não é caracterizada como antroponose. Os animais são reservatórios da infecção e, assim, a prevenção da brucelose humana depende predominantemente do controle da doença nos animais.

REFERÊNCIAS

ACHA, PN; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3. ed. Washington, D.C.:Organización Panamericana de la Salud, 2001. v.1

ALTON, GG et al. Techniques for the brucellosis laboratory. Paris: INRA, 1988. 109 p.

AZEVEDO, SS et al. Brucelose Canina por *Brucella canis*. Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária, Brasília, n. 31, p. 39-46, jan/fev. 2004.

BERTHELOT, X.; GARIN-BASTUJL; B. A brucelose do cão. A Hora Veterinária, n. 92, p. 47-50, 1996.

BRICKER, BJ. PCR as a diagnostic toll for Brucellosis. Veterinary Microbiology, v. 2402. P. 1-12, 2002.

CARMICHAEL, LE; GREENE, CE. Canine brucellosis. In: GREENE, C.E. Infectious diseases of the dog and cat. 2. Ed. Philadelphia: W. B. Saunders. 1998. p. 248 – 257.

CARMICHAEL, LE; SHIN S. Brucelose Canina causada por *Brucella canis*. Nova York: 1999.

CARMICHAEL, LE. *Brucella canis*. In: Nielsen K, Duncan JR. (Ed.). Animal brucellosis. Boca Raton: CRC Press, 1990. p.335-350.

CORRÊA, WM; CORRÊA, CNM. Enfermidades Infeciosas dos Mamíferos Domésticos. São Paulo: Medsi, 2. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992. cap. 20, p. 195-215.

ETTINGER, SJ; FELDMAN, EC. Tratado de Medicina Interna Veterinária. Editora Manole, 4 ed, v. 1, p. 534-535, 1997.

GERMANO, PM 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; et al. Isolamento de *Brucella canis*, em Minas Gerais, Brasil. Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, v. 29, n. 1, p. 35-42, 1977.

GOMES, J.P. Gênero *Brucella* spp. Microbiologia Clínica Veterinária. Área de Bacteriologia – UFRGS, 2012. Disponível em: <<http://www6.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Brucella%204-2012-1.pdf>>. Acesso em 05 de maio de 2012.

GUIMARÃES, LOF et al. Verificação de Aglutinina Anti *Brucella abortus* e Anti *Brucella ovis* em cães do Município de Silva Jardim, RJ. Revista Brasileira de Ciência Veterinária. V. 7, 2000.

HIRSH, DC; ZEE YC. Microbiologia Veterinária. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

JOHNSON, CA.; WALKER, RD. Clinical signs and diagnosis of *Brucella canis* infectio. The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian Small Animal, v. 14, n. 6, p. 763-772, 1992.

KEID, LB et al. A polymerase chain reaction for the detection of *Brucella canis* in semen of naturally infected dogs. Theriogenology, v.68, p.1203-1210, 2007.

KEID, LB. Avaliação de métodos diretos e indiretos de diagnostic da brucelose em cães naturalmente infectados. 2006. 135 f. Dissertação (Doutorado em Epidemiologia experimental e aplicada às zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

KIM, JW et al. Evaluation of immunochromatographic assay for serodiagnosis of *Brucella canis*. Journal of Veterinary Medical Science, v.69, p.1103-1107, 2007.
KONEMAN EW; et al. Diagnóstico Microbiológico. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. cap. 8, p. 441-447.

MEGID J et al. Serology and therapeutic efficacy of riphampicyn and streptomycin in dogs naturally infected with *Brucella canis*. In: Congress of the world small animal veterinary association, 23., 1998, Buenos Aires. Proceedings., Buenos Aires: 1998. P.814

MINHARRO, S; et al. Diagnóstico da Brucelose Canina: dificuldades e estratégias. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 29, , n. 3/4, p. 167-173, jul/dez. 2005

OLIVEIRA, M.Z.D et al. Validation of an ELISA method for the serological diagnosis of canine brucellosis due to *Brucella canis*. Research in Veterinary Science, n.90, p.425-431, 2010.

QUEIPO-ORTUÑO MI et al. Rapid Diagnosis of Human Brucellosis by Peripheral-Blood PCR Assay. Journal of Clinical Microbiology, v. 35, n. 11, p. 2927-2930, 1997.

QUINN PJ et al. Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. Porto Alegre: Artmed, 2005.

SANTOS, RL; SILVA, FL; PAIXÃO, TA; SAMARTINO, LE. Brucelose: zoonose e bioterrorismo. Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia, 2005.

SOUZA, LA et al. Prevalência de Infecção por *Brucella canis* em Belo Horizonte – MG. Revista Brasileira de Medicina Veterinária. v. 24, n. 3, 2002.

VARGAS, AC et al. Brucelose Canina: Relato de um caso. Ciência Rural, Santa Maria, v. 26, n. 12, p. 305-308, 1996.

VERONESI, R. Tratado de infectologia. 3ª Edição. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. Volume 1.