

## PESQUISA DE AGLUTININAS ANTI *BRUCELLA CANIS* EM SOROS HUMANOS NA CIDADE DE SÃO PAULO, BRASIL \*

Maria Helena Matiko Akao Larsson \*\*

RSPUB9/518

LARSSON, M. H. M. A. *Pesquisa de aglutininas anti Brucella canis na cidade de São Paulo, Brasil. Rev. Saúde públ., S. Paulo, 14:404-7, 1980.*

RESUMO: De 330 soros humanos examinados pela prova de soroaglutinação lenta em tubos, 4 (1,21%) apresentaram aglutininas anti *Brucella canis* em diluição 1:100 (1 reagente com título 100, 2 reagentes com título 200 e 1 reagente com título 400).

UNITERMOS: Sorodiagnóstico. Aglutininas. *Brucella canis*.

### INTRODUÇÃO

A brucelose canina é uma doença contagiosa de cães que se caracteriza por comprometimento de tecidos linfóides, aborto e infertilidade (Moore<sup>13</sup>, 1969; Spink<sup>15</sup>, 1970; Spink e Morisset<sup>16</sup>, 1970; Meyer<sup>12</sup>, 1974 e no Symposium on Immunity...<sup>18</sup>, 1970) e bacteremia prolongada (Spink<sup>15</sup>, 1970; Van Hoosier Jr. e col.<sup>19</sup>, 1970; Carmichael e George<sup>3</sup>, 1976).

O perigo da transmissão da brucelose canina ao homem foi abordado por Faigel<sup>6</sup> (1969), Freeman<sup>8</sup> (1971) e Wooley e col.<sup>21</sup> (1976). Embora o único animal que tem apresentado infecção natural por *Brucella canis* seja o cão, a doença tem potencial zoonótico devido à estreita relação entre esse animal e o homem (Lewis Jr. e Anderson<sup>10</sup>, 1973), fato este que tem sido comprovado através dos relatos de casos

humanos de infecção por *Brucella canis* (Carmichael e col.<sup>4</sup>, 1968; Swenson e col.<sup>17</sup>, 1972; Blankenship e Sanford<sup>2</sup>, 1975; Lovejoy e col.<sup>11</sup>, 1976) e também através dos trabalhos de prevalência de aglutininas anti *Brucella canis* em soros humanos (Lewis Jr. e Anderson<sup>10</sup>, 1973; Hoff e Schneider<sup>9</sup>, 1975; Barg e col.<sup>1</sup>, 1977; Weber e Bruner<sup>20</sup>, 1977).

Constam da literatura médica vários trabalhos referentes a relatos de casos humanos de doenças por *Brucella canis*. Carmichael e col.<sup>4</sup>, 1968 foram os pioneiros a descrever a infecção no homem, em 2 laboratoristas, que se infectaram acidentalmente, trabalhando com amostras de *Brucella canis* e Swenson e col.<sup>17</sup> (1972) descreveram o primeiro caso humano de infecção por *Brucella canis* adquirido em consequência

\* Parte da Tese subordinada ao título "Estudo epidemiológico da brucelose canina". São Paulo, 1979", apresentada à Comissão de concurso de Doutorado em Saúde Pública, no Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da USP.

\*\* Do Departamento de Patologia e Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP — Cidade Universitária — 05508 — São Paulo, SP — Brasil.

do contacto com animal doente. O paciente envolvido neste caso tratava-se de uma mulher de 23 anos de idade, portadora de doença cardíaca reumática, que apresentava febre, tremores e faringite, cuja hemocultura foi positiva para *Brucella canis* e cujo título aglutinante foi igual a 200. Através de investigação epidemiológica incriminou-se um animal da espécie canina, fêmea, com hemocultura positiva, como sendo a fonte de infecção.

Munford e col.<sup>14</sup> (1975) relataram outros 2 casos humanos de infecção por *Brucella canis* em indivíduos não envolvidos profissionalmente ao risco da infecção e que apresentavam sintomas tais como: febre, calafrios, indisposição e perda de peso. Um outro caso de doença humana por *Brucella canis* foi relatado por Blankenship e Sanford<sup>2</sup> (1975) cuja paciente apresentava febre e bacteremia de 4 meses de duração, e ao exame clínico observaram-se ainda linfadenopatia, hêpato e esplenomegalias.

Assim sendo, segundo o Center for Disease Control<sup>3</sup> (1977), existem relatados na literatura médica, no período de 1967-1974, 16 casos humanos de infecção por *Brucella canis*.

O presente trabalho tem a finalidade de verificar a ocorrência da infecção por *Brucella canis* na cidade de São Paulo.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Trezentos e trinta soros humanos\* foram examinados para pesquisa de aglutininas anti *Brucella canis*. Os soros foram mantidos a -20°C até o momento da execução da prova de soroaglutinação lenta, utilizando-se apenas aqueles sem evidência de hemólise.

A prova de soroaglutinação lenta foi realizada segundo a técnica preconizada por

Carmichael (1976)<sup>15</sup>, obedecendo as recomendações a seguir.

**Preparação do antígeno:** o antígeno para método lento foi preparado a partir de culturas de *Brucella canis* (RM 6-66), com 48-72 horas de crescimento, em garrafas de Roux contendo "Brucella agar". As bactérias eram removidas da superfície do agar pela adição de 25 ml de solução tamponada (pH 7,2 e 0,15M). A suspensão resultante era filtrada através de seis camadas de gaze e lavada duas vezes com a referida solução tamponada, por meio de centrifugação a 10.000 r.p.m., durante 20 min. Após a segunda lavagem, o sedimento era ressuspenso em aproximadamente 10 ml de citada solução tamponada e mantido em banho-maria, a 60-62°C durante duas horas, obtendo-se, desta forma, antígeno com brucelas mortas. Em seguida adicionava-se à suspensão, como preservativo 0,01% de mertiolate. O antígeno concentrado, assim obtido, era armazenado a 4°C, até o momento do uso. Para a realização da prova, o antígeno era diluído de forma a obter-se densidade de 0,2, em comprimento de onda de 420 nm, em espectrofotômetro Coleman Jr. II, modelo 6/20.

O procedimento para execução da prova de soroaglutinação lenta foi o seguinte:

- a) tubos de ensaio 12x75mm eram numerados de 1 a 7;
- b) com uma pipeta de 0,1ml, colocavam-se 0,04, 0,02, 0,01 e 0,005 ml de soro, respectivamente, nos tubos 1, 2, 3 e 4.

A seguir, preparava-se uma solução diluída de soro (1:10), em solução tamponada (pH 7,2 e 0,15M) que era colocada nas quantidades de 0,08, 0,04 e 0,02 ml, respectivamente, nos tubos 5, 6 e 7;

- c) para obtenção das diluições 1:50, 1:100, 1:200, 1:250, 1:400, 1:500 e 1:1.000, adicionavam-se, a cada tubo,

\* Cédidos pelo Laboratório Clínico do Centro de Saúde "Geraldo de Paula Souza" da Faculdade de Saúde Pública da USP.

<sup>15</sup> Standard tube agglutination test protocol for *Brucella canis* diagnosis, 1976. Dados inéditos.

2 ml de antígeno diluído: a seguir, os tubos eram incubados a 50-52°C durante 48 h;

- d) em todos os casos realizavam-se duas leituras, sendo a primeira após 24 h de incubação e a segunda após 48 h de incubação. Os resultados eram avaliados comparando-se o grau de turvação nos tubos, contendo soro desconhecido com o observado naquele contendo soro controle. Consideravam-se positivos os soros em cujos tubos não havia turvação e sim depósito, indicando aglutinação e, portanto, formação de complexo antígeno-anticorpo; consideravam-se negativos os soros cujos tubos permaneciam com turvação, após 48 horas de incubação;
- e) consideravam-se com títulos significativos os soros que se revelavam positivos às provas de aglutinação quando diluídos a 1/200 ou mais.

#### RESULTADOS

Dos trezentos e trinta soros humanos examinados pela prova de soroaglutinação lenta, quatro foram positivos para *Brucella canis*, dos quais um com título 1:100, dois com título 1:200 e um com título 1:400.

#### DISCUSSÃO

Dentre os trabalhos relativos à prevalência de aglutininas anti *Brucella canis* em soros humanos, podem-se citar os de: Hoft e Schneider<sup>9</sup> (1975) que encontraram 3 (0,99%) reagentes com título  $\geq$  1:200, de um total de 303 amostras examinadas;

Lewis e Anderson<sup>10</sup> (1973) que, examinando 1208 soros de recrutas militares norte-americanos, através da prova de soroaglutinação lenta, encontraram uma percentagem de soropositividade de 0,41, considerando positivos aqueles soros reagentes em diluições  $\geq$  1:100; Flores-Castro e Segura<sup>7</sup> (1976) dentre 203 soros humanos examinados observaram 27 com título  $\geq$  1:100, ou seja, 13,3% positivos; Barg e col.<sup>1</sup> (1977) observaram uma prevalência de 0,81% de reagentes para anticorpos anti *Brucella canis* de um total de 2020 soros humanos (doadores de sangue); Weber e Bruner<sup>20</sup> (1977) dentre 1915 soros humanos detectaram anticorpos aglutinantes contra *Brucella canis* em 6 amostras (0,31%) através do teste de soroaglutinação lenta.

Ainda é verdadeira a hipótese de que o homem pode, realmente, se infectar com o agente do aborto canino, conforme se denota pelos casos descritos na literatura (Carmichael e col.<sup>4</sup>, 1968; Swenson e col.<sup>17</sup>, 1972; Munford e col.<sup>14</sup>, 1975; Blankenship e Sanford<sup>2</sup>, 1975; Lovejoy e col.<sup>11</sup>, 1976). Sendo assim, deve-se pensar na possibilidade de infecção humana por *Brucella canis* nos casos em que ocorrem comprometimento de tecidos linfóides e hipertermia de etiologias indeterminadas.

#### CONCLUSÕES

Através da metodologia empregada neste trabalho, os resultados permitem concluir que a prevalência da infecção humana por *Brucella canis*, avaliada pela pesquisa de aglutininas específicas, foi realizada pela primeira vez em São Paulo, encontrando-se resultado igual a 1,21%.

RSPUB9/517

LARSSON, M. H. M. A. [Research on agglutinins for *Brucella canis* in human sera in the city of S. Paulo, Brazil.] *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 14: 404-7,

ABSTRACT: Of the 330 human sera tested by tube agglutination test, 4 (1.21%) were positive for *Brucella canis* antibodies with titers 1:100 or higher (1 reagent with titer of 1:100, 2 reagents with titer of 1:200, and 1 reagent with titer of 1:400).

UNITERMS: Serodiagnosis. Agglutinins. *Brucella canis*.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARG, L. et al. Pesquisa de aglutininas anti *Brucella canis* em soros humanos. *Arq. Esc. Vet. UFMG*, 29:31-4, 1977.
2. BLANKENSHIP, R. M. & SANDFORD, J. P. *Brucella canis*: a case of undulant fever. *Amer. J. Med.*, 59:424-6, 1975.
3. CARMICHAEL, L. E. & GEORGE, L. W. Canine brucellosis: newer knowledge. International Symposium on Brucellosis (II), Rabat, 1975. *Develop. biol. Stand.*, 31:237-50, 1976.
4. CARMICHAEL, L. E. et al. Human infection with the agent of canine abortion. *Bol. inf. trimest. Centro Panamer. Zoon.*, 10:24-7, 1968.
5. CENTER FOR DISEASE CONTROL. Brucellosis in the United States, 1965-1974. *J. infect. Dis.*, 136:312-6, 1977.
6. FAIGEL, H. C. Beagle fever-canine brucellosis. *Clin. Pediatr.*, 8:59, 1969.
7. FLORES-CASTRO, R. & SEGURA, R. A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in Mexico. *Cornell Vet.*, 66:347-52, 1976.
8. FREEMAN, A. Canine brucellosis. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 159: 6-7, 1971.
9. HOFF, G. L. & SCHNEIDER, N. J. Serologic survey for agglutinins to *Brucella canis* in Florida residents. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 24:157-9, 1975.
10. LEWIS JR., G. E. & ANDERSON, J. K. The incidence of *Brucella canis* antibodies in sera of military recruits. *Amer. J. publ. Hlth.*, 63:204-5, 1973.
11. LOVEJOY, G. S. et al. Serosurvey of dogs for *Brucella canis* infection in Memphis, Tennessee. *Amer. J. publ. Hlth.*, 66:175-6, 1976.
12. MEYER, M. E. Advances in research on brucellosis, 1957-1972. *Adv. vet. Sci. comp. Med.*, 18:231-50, 1974.
13. MOORE, J. A. *Brucella canis* infection in dogs. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 155: 2034-7, 1969.
14. MUNFORD, R. S. et al. Human disease caused by *Brucella canis*. A clinical and epidemiologic study of two cases. *J. Amer. med. Ass.*, 231:1267-9, 1975.
15. SPINK, W. W. Comments on canine brucellosis due to *Brucella canis*. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 156:1734-6, 1970.
16. SPINK, W. W. & MORISSET, R. Epidemic canine brucellosis due to a new species: *B. canis*. *Trans. Amer. clin. climat. Ass.*, 81:43-50, 1970.
17. SWENSON, R. M. et al. Human infection with *Brucella canis*. *Ann. intern. Med.*, 76:435-8, 1972.
18. SYMPOSIUM ON IMMUNITY TO SELECTED CANINE INFECTIOUS DISEASES, New York, 1969. Report of the panel. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 156: 1661-8, 1970.
19. VAN HOOSIER JR, G. L. et al. Enzootic abortion in a canine colony. III. Bacteremia, antibody response and mercaptoethanol sensitivity of agglutinins in naturally infected dogs 1,2,3. *Lab. anim. Care*, 20:964-8, 1970.
20. WEBER, A. & BRUNER, H. Seroepidemiologisch untersuchungen zum Vorkommen von Antikörpern gegen *Brucella canis* beim Menschen. *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A.*, 238:237-43, 1977.
21. WOOLEY, R. E. et al. Canine brucellosis in man. *Mod. vet. Pract.*, 57:287-90, 1976.

Recebido para publicação em 19/03/1980

Aprovado para publicação em 23/06/1980