

## Anticorpos anti *Brucella abortus*, anti *Brucella canis* e anti *Leptospira* spp. em raposas (*Pseudalopex vetulus*) do semiárido paraibano, Nordeste do Brasil

Detection of anti *Brucella abortus*, anti *Brucella canis* and anti *Leptospira* spp. Antibodies in hoary foxes (*Pseudalopex vetulus*) from semi-arid of Paraíba state, Northeastern region of Brazil

Sérgio Santos de Azevedo<sup>I\*</sup> Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva<sup>I</sup>  
Carolina de Sousa Américo Batista<sup>II</sup> Albério Antônio de Barros Gomes<sup>I</sup>  
Sílvio Arruda Vasconcelos<sup>II</sup> Clebert José Alves<sup>I</sup>

### RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar a ocorrência de anticorpos anti *Brucella abortus*, anti *Brucella canis* e anti *Leptospira* spp. em raposas (*Pseudalopex vetulus*). Para tanto, foram utilizadas 60 raposas atropeladas em rodovias no semiárido da Paraíba, Nordeste do Brasil. Para a detecção de anticorpos anti *Brucella abortus*, o teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) foi empregado como teste de triagem, e a prova do 2-mercaptoetanol foi empregada como método confirmatório. Para o diagnóstico sorológico das infecções por *Brucella canis* e *Leptospira* spp., foram utilizados os testes de imunodifusão em gel de agar (IDGA) e soroaglutinação microscópica, respectivamente. Todas as amostras foram negativas na pesquisa de anticorpos anti *Brucella canis* e anti *Leptospira* spp. Das 60 raposas testadas, 16 (26,6%) foram positivas para anticorpos anti *Brucella abortus* no teste de AAT, e quatro (6,7%) amostras foram confirmadas no teste de 2-mercaptoetanol, sendo duas amostras com título 100 e duas com título 50.

**Palavras-chave:** sorologia, brucelose, leptospirose, canídeos silvestres.

### ABSTRACT

The aim of this research was to determine the occurrence of anti *Brucella abortus*, anti *B. canis* and anti *Leptospira* spp. antibodies in foxes (*Pseudalopex vetulus*). Sixty road-killed wild foxes from semi-arid of Paraíba state, Northeastern region of Brazil, were used. For the detection of

anti *B. abortus* antibodies, the buffered plate agglutination test (BPAT) was applied as a screening method and the 2-mercaptoethanol test as a confirmatory method. For serological diagnosis of infections by *B. canis* and *Leptospira* spp., the agar gel immunodiffusion test (AGID) and the microscopic agglutination test (MAT) were used, respectively. All samples were negative for anti *B. canis* and anti *Leptospira* spp. antibodies. Of the 60 foxes tested, 16 (26.6 %) were positive for anti *B. abortus* antibodies at BPAT, four (6.7%) samples were confirmed in the 2-mercaptoethanol test, and two samples presented titer 100 and two titer 50.

**Key words:** serology, brucellosis, leptospirosis, wild canids.

A raposa-do-campo (*Pseudalopex vetulus*), também conhecida como raposa do Nordeste ou raposa grisalha, é um canídeo silvestre nativo do Brasil (DALPONTE, 1995) e encontrado comumente no semiárido nordestino. Possui atividade principalmente noturna e se alimenta de aves, pequenos roedores e insetos. No entanto, é comum o relato de proprietários rurais acerca do predadorismo de cordeiros e cabritos.

O potencial das raposas como possíveis transmissores de zoonoses foi evidenciado em trabalhos conduzidos no Brasil. GENNARI et al. (2004) relataram uma soropositividade de anticorpos anti

<sup>I</sup>Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av. Universitária, s/n, Bairro Santa Cecília, CP 64, 58700-970, Patos, PB, Brasil. E-mail: sergio@vps.fmvz.usp.br.

\*Autor para correspondência.

<sup>II</sup>Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.

*Toxoplasma gondii* de 60% (9/15) em raposas *Cerdocyon thous* de São Paulo e do Paraná. GOMES (2004) isolou vírus rábico a partir do cérebro de 12 raposas *Pseudalopex vetulus* atropeladas em rodovias dos Estados da Paraíba, de Pernambuco e do Rio Grande do Norte. Utilizando esses 12 animais, SILVA et al. (2009) isolaram vírus rábico das glândulas salivares de todos eles.

*Brucella abortus* é o principal agente etiológico da brucelose bovina, doença bacteriana de evolução crônica e caráter granulomatoso difuso, caracterizada pela infecção de células do sistema mononuclear fagocitário, e representa em todo o mundo um problema sanitário e econômico (PAULIN & FERREIRA NETO, 2003). Nos seres humanos, a brucelose é uma antropozoonose de caráter principalmente ocupacional, e os indivíduos mais expostos são os que trabalham diretamente com os animais infectados (tratadores, proprietários e veterinários) ou com produtos de origem animal (magarefes e laboratoristas) (DOGANAY & AYGEN, 2003).

As espécies silvestres, principalmente as unguladas, são reservatórios naturais da *Brucella abortus* e desempenham importante papel na epidemiologia da doença, pois são os mantenedores do agente no ambiente silvestre (PAULIN & FERREIRA NETO, 2003). Em condições naturais, as brucelas já foram isoladas de uma grande variedade de espécies silvestres, incluindo raposas (SZYFRES & GONZALEZ TOME, 1966; DAVIES et al., 1973).

No Brasil, não existem relatos da ocorrência de raposas *Pseudalopex vetulus* soropositivas para *B. abortus*, *B. canis* e *Leptospira* spp. O objetivo do presente trabalho foi pesquisar anticorpos contra esses agentes em raposas do semiárido paraibano.

Foram utilizadas 60 raposas (*Pseudalopex vetulus*) atropeladas nas rodovias do semiárido paraibano, no período de março a agosto de 2004. As rodovias onde foram recolhidas as raposas atropeladas são aquelas que cortam o semiárido do Estado da Paraíba, nas proximidades do Município de Patos, localizado a 320km do litoral, entre as latitudes Sul – 06°46' 19" e 07°38' 32" e longitudes Oeste – 36°42' 52" e 38°08' 56". As rodovias foram: BR 230, que liga Patos a Pombal e Patos a Santa Luzia; BR 361, que liga Patos a Itaporanga; BR 110, que liga Patos a Teixeira; e PB 230, que liga Desterro a Tavares.

Para o recolhimento dos animais atropelados, foi utilizada a frota de veículos que servem a região para transporte alternativo. Cada motorista voluntário que aderiu ao estudo foi alertado dos riscos de transmissão de doenças, recebeu instruções sobre

os procedimentos a serem tomados e recebeu também luvas e sacos plásticos para o recolhimento seguro dos cadáveres. Para a obtenção de soro sanguíneo, foi coletado coágulo da cavidade cardíaca. O material foi enviado ao Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), campus de Patos, onde foi realizada a centrifugação para obtenção do soro, e posterior estocagem a -20°C, até a realização dos exames sorológicos.

Para a pesquisa de anticorpos anti *B. abortus*, o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) foi utilizado como prova de triagem, e os soros que reagiram positivamente foram submetidos à prova do 2-mercaptoetanol (BRASIL, 2001).

O teste de imunodifusão em gel de agar, utilizando kits produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR) e empregando antígeno de lipopolissacarídeos e proteínas de *Brucella ovis*, amostra Reo 198, foi utilizado no diagnóstico sorológico da infecção por *B. canis*. A técnica foi executada de acordo com as recomendações do fabricante.

O diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira* spp. foi realizado pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM), de acordo com GALTON et al. (1965) e COLE et al. (1973), com uma coleção de antígenos vivos composta por 22 sorovares patogênicos e dois saprófitos: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panamá, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffi, Shermani, Tarassovi, Andamana, Patoc e Sentot. Os soros foram triados na diluição de 1:100, e aqueles que apresentaram 50% ou mais de aglutinação foram titulados pelo exame de uma série de diluições geométricas de razão dois. O título do soro foi a recíproca da maior diluição que apresentou resultado positivo.

Todas as amostras de soro analisadas (n=60) foram negativas para anticorpos anti *Brucella canis* e anti *Leptospira* spp. Para *B. abortus*, 16 (26,6%) amostras foram positivas no AAT, e quatro (6,7%) foram confirmadas na prova do 2-mercaptoetanol, sendo duas amostras com título 100 e duas com título 50.

Foram detectados anticorpos anti *Brucella abortus* em raposas de várias partes do mundo, bem como foi realizado o isolamento do agente. SZYFRES & GONZÁLEZ TOME (1966) obtiveram soropositividade de 23,8% em raposas *Dusicyon gymnocercus antiquus* e *Dusicyon griseus griseus*, nos distritos de Azul e Olavarria, Buenos Aires, com 11,3% das amostras positivas apresentando títulos =100,

sendo isolada *B. abortus* biotipo 1 de animais soropositivos. DAVIES et al. (1973) testaram 87 raposas vermelhas (*Vulpes vulpes*) de uma área do país de Gales onde a brucelose bovina era endêmica e encontraram anticorpos anti *Brucella abortus* em oito (9,2%). Nesse trabalho, *B. abortus* biotipo 1 foi isolada de uma raposa soropositiva. Na Califórnia, McCUE & O'FARRELL (1988) encontraram anticorpos anti *Brucella abortus* em três (13%) de 23 raposas *Vulpes macrotis mutica*, no período de 1981 e 1982. Na Argentina, no período de 1998 a 2001, MARTINO et al. (2004) relataram soropositividade de 18% em raposas *Dusicyon culpaeus* e *Dusicyon griseus* da região da Patagônia.

No presente trabalho, embora não tenha sido conduzida a tentativa de isolamento do agente, há um forte indício de que as raposas estavam naturalmente infectadas dada a elevada sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos em série (AAT e 2-mercaptoetanol) empregados, em torno 95 e 99,5%, respectivamente (AZEVEDO, 2006), utilizados oficialmente no Brasil para o diagnóstico sorológico da brucelose bovina como parte integrante das ações do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina (PNCEBT), instituído em 2001.

A ocorrência de raposas soropositivas para *B. abortus* sugere a possibilidade de infecção natural nesses animais e levanta preocupações, uma vez que a ocorrência de animais silvestres infectados pode dificultar o sucesso do PNCEBT, dada a possibilidade de contato com bovinos submetidos a manejo extensivo. Sugere-se que novos estudos sejam conduzidos em raposas atropeladas com os objetivos de isolar o agente e confirmar a infecção nesses animais, tendo em vista a adoção de medidas que impeçam o prejuízo do PNCEBT.

## REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, S.S. **Caracterização epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Espírito Santo**. 2006. 103f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Curso de Pós-graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses, Universidade de São Paulo, SP.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Defesa Animal. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT). Inquérito soroepidemiológico da brucelose – **Manual de procedimentos**. Brasília, 2001. 20p.
- COLE, J.R. et al. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination. **Applied Microbiology**, v.25, n.6, p.976-980, 1973. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=380950&blobtype=pdf>>. Acesso em: 18 set. 2009.
- DAVIES, G.J.H. et al. Isolation of *Brucella abortus* from a Fox (*Vulpes vulpes*). **State Veterinary Journal**, v.28, p.250-252, 1973.
- DALPONTE, J.C. The hoary fox in Brazil. **Canid News**, v.3, p.23-24, 1995.
- DOGANAY, M.; AYGEN, B. Human brucellosis: an overview. **International Journal of Infectious Diseases**, v.7, n.3, p.173-182, 2003. Disponível em: <[http://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(03\)90049-X/pdf](http://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(03)90049-X/pdf)>. Acesso em: 12 ago. 2009.
- GALTON, M.M. et al. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. **Applied Microbiology**, v.13, p.81-85, 1965. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1058195&blobtype=pdf>>. Acesso em: 18 set. 2009.
- GENNARI, S.M. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies from wild canids from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.121, p.337-340, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.02.023>>. Acesso em: 23 jul. 2009. doi: 10.1016/j.vetpar.2004.02.023.
- GOMES, A.A.B. **Epidemiologia da raiva: caracterização de vírus isolados de animais domésticos e silvestres do semi-árido paraibano da região de Patos, Nordeste do Brasil**. 2004. 107f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Curso de Pós-graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses, Universidade de São Paulo, SP.
- MARTINO, P.E. et al. Serological survey of selected pathogens of free-ranging foxes in southern Argentina, 1998-2001. **Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties**, v.23, n.3, p.801-806, 2004.
- McCUE, P.M.; O'FARRELL, T.P. Serological survey for selected diseases in the endangered San Joaquin kit fox (*Vulpes macrotis mutica*). **Journal of Wildlife Diseases**, v.24, n.2, p.274-281, 1988.
- PAULIN, L.M.; FERREIRA NETO, J.S. **A experiência brasileira no combate à brucelose bovina**. Jaboticabal: Funep, 2003. 154p.
- SILVA, M.L.C.R. et al. Isolation of rabies virus from the parotid salivary glands of foxes (*Pseudalopex vetulus*) from Paraíba State, Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.40, p.446-449, 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S15183822009000300004&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S15183822009000300004&lng=en&nrm=iso&tlng=en)>. Acesso em: 16 set. 2009. doi: 10.1590/S1517-83822009000300004.
- SZYFRES, B.; GONZALEZ TOME, J. Natural *Brucella* infection in Argentine wild foxes. **Bulletin of the World Health Organization**, v.34, n.6, p.919-923, 1966.