

FREQÜÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* E ANTÍGENOS DE *Dirofilaria immitis* EM CÃES NA MICRORREGIÃO ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA, BRASIL

RENATA S.A. CARLOS¹; ELZA S. MUNIZ NETA²; FERNANDO H. SPAGNOL²; LAURA L.S. OLIVEIRA²; ROBERTA L.L. DE BRITO²; GEORGE R. ALBUQUERQUE³; NÁDIA R. PALMOSNY⁴

ABSTRACT:- CARLOS, R.S.A.; MUNIZ NETA, E.S.; SPAGNOL, F.H.; OLIVEIRA, L.S.; BRITO, R.L.L.; ALBUQUERQUE, G.R.; ALMOSNY, N.R.P. [Frequency of antibodies anti-*Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* and *Dirofilaria immitis* antigens in dogs from microrregion Ilhéus-Itabuna, State of Bahia, Brazil]. Frequência de anticorpos anti-*Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* e antígenos de *Dirofilaria immitis* em cães na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 3, p. 117-120, 2007. Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA 45650-000. E-mail: gralbu@uesc.br

In order to detect the positivity to antigens of *Dirofilaria immitis*, antibodies anti-*Borrelia burgdorferi* and anti-*Ehrlichia canis*, 200 canine blood samples were collected as followed: 100 from the municipality of Ilhéus and 100 from Itabuna, State of Bahia. The kit Snap 3DX (IDEXX Laboratories) was used to performe serology. None of the tested animals were positive for antigens of *D. immitis*. Only two dogs of them were positive for antibodies anti-*B. burgdorferi*. From all the samples analyzed, 72 (36%) were positive for antibodies anti-*E. canis*, 43 from Ilhéus and 29 from Itabuna (p=0,027).

KEY WORDS: *Dirofilaria immitis*; *Borrelia burgdorferi*; *Ehrlichia canis*; serology; diagnostic.

RESUMO

Para avaliação de positividade para antígenos de *Dirofilaria immitis*, anticorpos anti-*Borrelia burgdorferi* e anti-*Ehrlichia canis* foram coletadas 200 amostras de sangue de cães, 100 no município de Ilhéus e 100 no de Itabuna. Foi utilizado o "kit" Snap 3DX (IDEXX Laboratories) para realização das sorologias. Não se observou nenhum animal positivo para antígenos de *D. immitis*. Apenas dois dos cães estavam positivos para anticorpos anti-*B. burgdorferi*. Do total de amostras analisadas, 72 (36%) estavam positivas para anticorpos anti-*E. canis*, sendo 43 em Ilhéus e 29 em Itabuna (p=0,027).

PALAVRAS-CHAVE: *Dirofilaria immitis*; *Borrelia burgdorferi*; *Ehrlichia canis*; sorologia; diagnóstico.

INTRODUÇÃO

A dirofilariose tem como agente etiológico o nematóide *Dirofilaria immitis* Railliet e Henry, 1911 (LABARTHE et al., 2002). A prevalência dessa enfermidade varia no Brasil de números próximos de zero (DAGNONE et al., 2002; LABARTHE et al. 2003) em alguns estados até 21% e 34% no Rio de Janeiro (LABARTHE, et al., 1997). Valores bastante divergentes também foram observados quando se verifica a literatura mundial, como de 0,16% no Canadá a 58% nas Ilhas Canárias, Espanha (MONTROYA et al., 1998; KLOTINS et al., 2000).

Quanto a Doença de Lyme, esta é uma infecção multissistêmica que acomete homens e animais, causada por três espécies de espiroquetas dentro do genogruppo da *Borrelia burgdorferi sensu lato* (HOVIUS et al., 2000; REED, 2002), sendo considerada como doença transmissível por carrapatos, comum em humanos nos EUA (SHEETES et al., 2000), chegando a prevalência em cães nesse mesmo país a 19,7% (RAND et al., 1996). No Brasil, sorologia para borreliose em

¹ Curso de Pós-Graduação em Clínica e Cirurgia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brasil Filho 64, Niterói, RJ 24230-340. E-mail: renatinhasantiago@ig.com.br

² Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Santa Cruz, Salobrinho, Ilhéus, BA 45650-000.

³ Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Estadual de Santa Cruz, Salobrinho, Ilhéus, BA 45650-000. E-mail: gralbu@uesc.br

⁴ Departamento de Clínica e Cirurgia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brasil Filho 64, Niterói, RJ 24230-340. E-mail: almosny@vm.uff.br

cães teve variações de positividade de zero (DAGNONE et al. 2002; LABARTHE et al. 2003) até 48,2% (ALVES et al., 2004).

Ehrlichia canis uma bactéria da ordem Rickettsiales, descrita inicialmente em 1935 por Donatien e Lestoquard na Argélia, teve seu primeiro relato no Brasil, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais por Costa et al. (1973), que identificaram inclusões (mórulas) em linfócitos de cão infectado naturalmente. Este gênero compreende parasitos intracitoplasmáticos de leucócitos e plaquetas do sangue circulante de várias espécies de mamíferos, sendo transmitidos biologicamente pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. A doença ocorre em países de clima temperado, subtropical e tropical e tem sido relatada em todos os continentes (ALMOSNY; MASSARD, 2002).

No Brasil, verifica-se uma maior frequência no Nordeste e Centro-Oeste (BORBA et al., 2002; LABARTHE et al., 2003), e menor em estados de clima temperado como o Paraná, onde chega a 4,7% (LABARTHE et al., 2003).

O presente artigo tem como objetivo avaliar a frequência de antígenos de *D. immitis* e anticorpos anti-*B. burgdorferi* e anti-*E. canis*, nas cidades de Ilhéus e Itabuna, microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, e verificar se existe diferença entre os dois municípios.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo transversal foi desenvolvido nos municípios de Ilhéus (Latitude 14°47'20" Sul; Longitude 39°02'58" Oeste) e Itabuna (Latitude 14°47'08" Sul; Longitude 39°16'49" Oeste), ambos os municípios localizados na Região Sul Baiana, Microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia.

As amostras de sangue dos cães foram coletadas no Ambulatório Veterinário da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), na Clínica Veterinária Provet e em visitas domiciliares nos dois municípios. O sangue foi retirado por venopunção jugular ou cefálica, com agulha 27 x 8 mm e tubos de ensaio com anticoagulante.

Foram avaliados 200 cães, sendo 100 em cada município, independente de sexo, raça e com no mínimo um ano de vida, no período de agosto de 2004 a abril de 2005. A seleção dos animais foi realizada de forma não aleatória, sendo utilizados os animais que foram ao médico veterinário durante o dia de coleta, ou em visitas domiciliares nas quais os proprietários concordaram com a participação de seus cães no estudo.

A amostragem foi calculada a partir de uma população estimada de 40.000 cães, pelo resultado encontrado para *D. immitis*, no trabalho de Labarthe et al. (2003), na Bahia, com uma prevalência esperada de 4,3% e pior resultado esperado de 1%, com nível de confiança de 95%. O cálculo foi feito em relação a *D. immitis*, pois era o parasito de menor prevalência.

Para a pesquisa de anticorpos anti-*E. canis*, anti-*B. burgdorferi* e antígenos circulantes de *D. immitis* foi utilizado o teste ELISA, através do "kit" de diagnóstico Snap 3Dx® (IDEXX Laboratories) e realizado conforme recomendações do fabricante.

Os testes estatísticos do Qui-quadrado (χ^2) e o Teste exato de Fisher, foram utilizados para verificar se houve diferença entre a positividade dos municípios, utilizando o programa Epi Info 2002 (DEAN; ARNER, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dirofilaria immitis

Dos 200 animais examinados nos dois municípios, nenhum teve sorologia positiva para *D. immitis*.

Quando se verifica a literatura mundial, encontram-se valores discrepantes, com a positividade variando de 0,16 a 58% no Canadá e nas Ilhas Canárias, Espanha, respectivamente, e observa-se ainda um declínio progressivo ao longo dos anos no Canadá (MONTROYA et al., 1998; KLOTINS et al., 2000).

No Brasil essa grande diferença também é observada, com resultados variando de 0% em Alagoas, Distrito Federal, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná e Pernambuco (DAGNONE et al., 2002; LABARTHE et al. 2003) a 21,34% no Rio de Janeiro (LABARTHE, et al., 1997), todos utilizando o "kit" ELISA para diagnóstico.

Analisando-se apenas a região Nordeste, observou-se em geral uma baixa positividade para este parasito, com 0% em Alagoas, 4,3% na Bahia, 9,1% no Ceará (LABARTHE et al., 2003). Alves et al. (1999) encontraram 1% no teste knott e 1,3% utilizando "kit" ELISA de diagnóstico em Pernambuco, resultados semelhantes aos encontrados nesta pesquisa.

Um importante decréscimo na positividade de *D. immitis* em cães foi verificado no Rio de Janeiro, que teve em 1997, positividade de 21,34% (LABARTHE, et al., 1997) e em 2003 apenas 3,8% (LABARTHE et al., 2003). Essa diminuição na positividade pode estar ligada a alguns fatores, como conscientização por parte da classe veterinária em relação à prevenção, associada ao aumento da disponibilidade e uso de preventivos para dirofilariose por parte dos proprietários e empresas fabricantes dos produtos (LABARTHE et al., 2003), além do uso indiscriminado de ivermectinas em cães como preventivos para carrapatos, o que é comum nos municípios estudados.

Borrelia burgdorferi

Em relação a anticorpos anti-*B. burgdorferi*, foram observados dois animais positivos (1%), sendo um macho positivo em Ilhéus e uma fêmea em Itabuna.

No Brasil, Dagnone et al. (2002) e Labarthe et al. (2003), utilizando o mesmo "kit" ELISA usado nesta pesquisa, observaram positivities próximas a zero, concordando com os resultados desse estudo. Porém, Joppert et al. (2001), O'Dwyer et al. (2004) e Alves et al. (2004) obtiveram resultados de 9,8%, 15,54% e 48,2% pelo ELISA indireto, que embora utilizando a tecnologia ELISA, são testes diferentes, o que pode, por questões de padronização obter resultados diferentes. Além disso, sabe-se que a positividade no ELISA não significa doença clínica, nem a presença do parasito, pois avalia-se a presença de anticorpo, podendo ocorrer reação cruzada com ou-

Tabela 1. Soropositividade de cães ao ELISA para IgG anti-*Ehrlichia canis* na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia.

Municípios	Cães		χ^2	Valor de p	Razão de Chances (OR)	Intervalo de Confiança 95%
	Positivos	Negativos				
Ilhéus	43	57	3,66	0,055 ^a	0,54	0,30-0,97
Itabuna	29	71		0,027 ^b		
Salobrinho	18	8	12,61	0,0004 ^a	5,51	1,91-15,72
Itabuna	29	71				
Salobrinho	18	8	8,43	0,0036 ^a	4,41	1,54-12,97
Ilhéus s/ Salobrinho	25	49				
Ilhéus s/ Salobrinho	25	49	0,26	0,611 ^a	1,25	0,62-2,51
Itabuna	29	71				

^a Qui-quadrado^b Teste Exato de Fisher

tros organismos entre eles, espiroquetas como *Leptospira* (MAGNARELLI et al., 1985) e *Babesia* (JACOBSON et al., 1996). No presente estudo, os dois animais positivos foram vacinados com vacina conjugada para viroses caninas e leptospirose, conforme informação dos proprietários.

É importante frisar que a literatura recomenda que o diagnóstico seja realizado em duas etapas, primeiras analisando-se as amostras pelo ELISA, e posteriormente avaliando-se apenas os positivos para o ELISA pelo “immunoblot”, para unificar resultados e diferenciar positividade por infecção natural, vacinação ou reação cruzada (SHEETS et al., 2000; REED, 2002). No Brasil não há vacinas para borreliose, e a realização do “immunoblot” seria necessária apenas para confirmar os resultados positivos do ELISA.

Ehrlichia canis

A positividade de anticorpos anti-*E. canis* encontrada neste estudo foi de 43% (43) em Ilhéus e de 29% (29) em Itabuna, perfazendo um total de 36% (72) dos 200 cães avaliados nos dois municípios. Esses resultados foram similares aos encontrados por Rodriguez-Vivas et al. (2005) no México, utilizando o “kit” ELISA SNAP 3Dx®, Cocco et al. (2003) na Itália, Pretorius e Kelly (1998) na África do Sul pela Imunofluorescência indireta.

No Brasil, Borba et al. (2002) e Labarthe et al. (2003) trabalhando com o mesmo “kit” ELISA, observaram resultados semelhantes, sendo o primeiro 46,67% no Recife, Pernambuco; e o segundo 45,5% no Ceará, 49,5% em Pernambuco, 54,5% em Alagoas, 35,7% em Mato Grosso do Sul e 29,6% no Rio de Janeiro.

Por outro lado, este resultado difere dos relatados para Londrina (23%) no Paraná (DAGNONE et al., 2002), Minas Gerais (20,9%), São Paulo 15,5%, Paraná 4,7%, Santa Catarina 0,7% e Rio Grande do Sul 1,7% (LABARTHE et al., 2003), também com “kit” SNAP 3Dx®.

As diferenças de reagentes para *E. canis*, observadas entre os estados do Nordeste e do Sul, podem estar relacionadas a uma melhor adaptação e, conseqüentemente ao maior número de carrapatos em climas quentes e úmidos, do que em

climas temperados (LABARTHE et al., 2003). Outros fatores que podem influenciar nos resultados são: tipo de amostragem, tamanho das amostras utilizadas nos estudos e sensibilidade dos testes.

Foi observada diferença significativa entre os dois municípios ($p=0,027$). Essa diferença pode ser justificada pela presença neste estudo de 26 cães de um bairro rural da cidade de Ilhéus conhecido como Salobrinho, comunidade esta, cuja situação sócio-econômica dificulta o controle do vetor deste agente etiológico, e os cães são facilmente infestados por carrapatos. Quando se realizou a análise estatística sem a presença dos animais desse bairro, não houve diferença significativa entre os dois municípios (Tabela 1). Esse resultado corrobora os achados de Sainz et al. (1996) e Dagnone et al. (2002) quando observaram que cães que habitavam área urbana periférica ou rural tinham maiores riscos de infecção por *E. canis*.

Agradecimentos:- A IDEXX Laboratories pelo fornecimento dos “kits” de diagnóstico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMOSNY, N.R.P.; MASSARD, C.L. Erliquiose em pequenos animais domésticos e como zoonose. In: ALMOSNY, N.R.P. *Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses*. Rio de Janeiro: LFLivros, 2002. p. 13-56.
- ALVES, L.C.; SILVA, L.V.A.; FAUSTINO, M.A.G.; McCALL, J.W.; SUPAKONDEJ, P.; LABARTHE, N.W.; SANCHEZ, M.; CAIRES, O. Survey of canine heartworm in the city of Recife, Pernambuco, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 94, n. 5, p. 587-590, 1999.
- ALVES, A.L.; MADUREIRA, R.C.; SILVA, R.A. da; CORRÊA, F.N.; BOTTEON, R.C.C.M. Frequência de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* em cães na região metropolitana do Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 24, n. 4, p. 203-206, 2004.
- BORBA, M.A.C.; MELLO, V.S.P.; ALVES, L.C.; McKEE, W.; BARBARINI JUNIOR, O.; LABARTHE, N.V.; FAUSTINO, M.A.G.; AZEVEDO, J.P.S. Diagnóstico

- sorológico da erlichiose canina no município do Cabo de Santo Agostinho estado de Pernambuco. In. CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, 2002, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: CBPV, 2002. 1 CD- ROM.
- COCCO, R.; SANNA, G.; CILLARA, M.G.; TOLA, S.; XIMENES, L.; PINNAPAPAGLIA, M.L.; MASALA, G. Ehrlichiosis and Rickettsiosis in a canine population of Northern Sardinia. *Annals New York Academy of Science*, v. 990, p. 126-130, 2003.
- COSTA, J.O.; BATISTA JÚNIOR, J.A.; SILVA, M.; GUIMARÃES, P.M. *Ehrlichia canis* infection in dog in Belo Horizonte, Brazil. *Arquivo da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*, v. 25, n. 2, p. 199-200, 1973.
- DEAN, A.G.; ARNER, T. Epi Info: Epidemiology of program office. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/epiinfo/index.html>>. Acesso em: 20 de abril de 2002.
- DAGNONE, A.S.; TRAPP, S.M.; JOJIMA, F.S.; AMUDE, A.M.; MORAIS, H.A.S.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O. Avaliação soroprevalência da infecção por *Ehrlichia canis*, *Dirofilaria immitis* e *Borrelia burgdorferi* em cães de uma população hospitalar. In. CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, 2002, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: CBPV, 2002. 1 CD- ROM.
- HOVIUS, J.W.R.; HOVIUS, K.E.; OEI, A.; HOUWERS, D.J.; van DAM, A.P. Antibodies against specific proteins of and immobilizing activity against three strains of *Borrelia burgdorferi sensu lato* can be found in symptomatic but not in infected asymptomatic dogs. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, n. 7, p. 2611-2621, 2000.
- JACOBSON, R.H.; CHANG, Y.; SHIN, S.J. Lyme disease: laboratory diagnosis of infected and vaccinated symptomatic dogs. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, v. 11, n. 3, p. 172-182, 1996.
- JOPPERT, A.M.; HAGIWARA, M.K.; YOSHINARI, N.H. *Borrelia burgdorferi* antibodies in dogs from Cotia country, São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 43, n. 5, p. 251-255, 2001.
- KLOTINS, K.C.; MARTIN, S.W.; BONNETT, B.N.; PEREGRINE, A.S. Are we being effective? *Canadian Veterinary Journal*, v. 41, n. 12, p. 929-937, 2000.
- LABARTHE, N.; ALMOSNY, N.; GUERRERO, J.; DUQUE-ARAÚJO, A.M. Description of the occurrence of canine dirofilariasis in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 92, n. 1, p. 47-51, 1997.
- LABARTHE, N.V.; ALVES, L.C.; SERRÃO, M.L. Dirofilariose em pequenos animais domésticos e como zoonose. In: ALMOSNY, N.R.P. *Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses*, Rio de Janeiro: LF Livros, 2002. p. 111-135.
- LABARTHE, N.; PEREIRA, M.C.; BARBARINI, O.; McKEE, W.; COIMBRA, C.A.; HOSKINS, J. Serologic Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* Infections in Brazil. *Veterinary Therapeutics*, v. 4, n. 1, p. 67-75, 2003.
- MAGNARELLI, L.A.; ANDERSON, J.F.; KAUFMAN, A.F.; LIEBERMAN, L.L.; WHITNEY, G.D. Borreliosis in dogs from southern Connecticut. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 186, n. 9, p. 955-959, 1985.
- MONTOYA, J.A.; MORALES, M.; FERRER, O.; MOLINA, J.M.; CORBERA, J.A. The prevalence of *Dirofilaria immitis* in Gran Canaria, Canary Islands, Spain (1994-1996). *Veterinary Parasitology*, v. 75, n. 2-3, p. 221-226, 1998.
- O'DWYER, L.H.; SOARES, C.O.; MASSARD, C.L.; SOUZA, J.C.P.; FLAUSINO, W.; FONSECA, A.H. Soroprevalência de *Borrelia burgdorferi latu sensu* associada a presença de carrapatos em cães de áreas rurais do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Ciência Rural*, v. 34, n. 1, p. 201-201, 2004.
- PRETORIUS, A.M.; KELLY, P.J. Serological survey for antibodies reactive with *Ehrlichia canis* and *E. chaffeensis* in dogs from the Bloemfontein area, South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association*, v. 69, n. 4, p. 126-128, 1998.
- RAND, P.W.; LACOMBE, E.H.; SMITH JR., R.P.; GENSHEIMER, K.; DENNIS, D.T. Low seroprevalence of human Lyme disease near a focus of high entomologic risk. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 55, n. 2, p. 160-164, 1996.
- REED, K.D. Laboratory testing for Lyme Disease: Possibilities and Practicalities. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 40, n. 2, p. 319-324, 2002.
- RODRIGUEZ-VIVAS, R.I.; ALBORNOZ, R.E.F.; BOLIO, G.M.E. *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, México: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Veterinary Parasitology*, v. 127, n. 1, p. 75-79, 2005.
- SÁINZ, A.; DELGADO, S.; AMUSATEGUI, I. TESOURO, M.A.; CÁRMENES, P. Seroprevalence of canine ehrlichiosis in Castilla-Leon (north-west Spain). *Preventive Veterinary Medicine*, v. 29, n. 1, p. 1-7, 1996.
- SHEETS, J.T.; ROSSI, C.A.; KEARNEY, B.J.; MOORE, G.E. Evaluation of a commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for detection of *Borrelia burgdorferi* exposure in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 216, n. 9, p. 1418-1422, 2000.

Recebido em 09 de dezembro de 2005.

Aceito para publicação em 11 de setembro de 2007.