

DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-*Borrelia burgdorferi* EM CÃES PROCEDENTES DO CENTRO DE CONTROLE DE ZONOSSES DE CAMPO GRANDE, MATO GROSSO DO SUL, BRASIL*

DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST *Borrelia burgdorferi* IN DOGS ORIGINATING FROM THE CENTER OF ZONOSIS CONTROL OF CAMPO GRANDE IN MATO GROSSO DO SUL STATE, BRAZIL.

Fabiana Pessoa Salgado^{1**}; Michael Robin Honer²; Márcia Mayumi Ishikawa³; Renata Cunha Madureira⁴; Cleber Oliveira Soares⁵; Leonardo Rigo⁶ e Aivaldo Henrique da Fonseca⁷

ABSTRACT. Salgado, F.P.; Honer, M.R.; Ishikawa, M.M.; Madureira, R.C.; Soares, C.O.; Rigo, L. & Fonseca, A.H. da. [Detection of antibodies against *Borrelia burgdorferi* in dogs originating from the center of zoonosis control of Campo Grande in Mato Grosso do Sul State, Brazil.] Detecção de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* em cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 30(2):97-101, 2008. Curso de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av Filinto Muller, 2443, Caixa Postal 549, Campo Grande, MS 79070-900, Brasil. E-mail: biavet@nin.ufms.br

Canine borreliosis has as its etiological agent *Borrelia burgdorferi* lato sensu, which is transmitted by ixodídeos ticks and can attack human and animals. A total of 180 blood samples was collected from dogs originating from the Center of Zoonosis Control of Campo Grande in Mato Grosso do Sul State (MS). The serums analysed through the indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) revealed 73.3% (132) of animals seropositives, with titres that varied from 1:400 (46.1%) to 1:3200 (0.5%). All dogs were examined in relation to the presence of ticks and only the species *Rhipicephalus sanguineus* was found in 15.6% (28) of the dogs. The large number of dogs detected as seropositive suggests the hypothesis of *Borrelia* sp. as the possible agent of *Borreliose de Lyme simile* and in this way the relevance of this as an emerging zoonosis.

KEY WORDS: dogs, *Borrelia burgdorferi*, *Rhipicephalus sanguineus*, zoonosis.

RESUMO. A Borreliose canina tem como agente etiológico a *Borrelia burgdorferi* lato sensu, que é transmitida por carrapatos ixodídeos e pode acometer também seres humanos e animais. Foram coletadas 180 amostras sanguíneas de cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Cam-

po Grande, MS. Os soros analisados por meio do ensaio imunoadsorção enzimático (ELISA) indireto revelaram 73,3% (132) de animais soropositivos, com títulos que variaram de 1:400 (46,1%) a 1:3200 (0,5%). Todos os cães foram examinados quanto à presença de carrapatos e foi constatada apenas a es-

*Recebido em 9 de abril de 2008

¹ Médica-veterinária. Pós-graduanda do Curso de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av Filinto Muller, 2443, Caixa Postal 549, Campo Grande, MS 79070-900, Brasil. Bolsista da FUNDECT. *E-mail: biavet@nin.ufms.br

² Médico-veterinário. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UFMS, Campo Grande, MS 79070-900.

³ Médica-veterinária. Embrapa Agropecuária Centro-Oeste, BR 163 KM 253, Dourados, MS 79804-970.

⁴ Médica-veterinária, Pós-graduanda do Curso de Doutorado Ciências Veterinárias, UFRRJ, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23890-970.

⁵ Médico-veterinário. Embrapa Gado de Corte, BR 262, Km 4, Caixa Postal 154, Campo Grande, MS 79002-970.

⁶ Médico-veterinário. Secretaria Municipal de Saúde, Rua 13 de Maio, 1090, Campo Grande, MS 79004-423.

⁷ Médico-veterinário. Docente da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23890-970.

pécie *Rhipicephalus sanguineus*, em 15,6% (28) dos cães avaliados. O grande número de cães soropositivos detectados demonstra a hipótese da ocorrência de *Borrelia* sp. como possível agente da *Borreliose de Lyme simile* e desta forma a sua relevância como zoonose emergente.

PALAVRAS-CHAVE: cães, *Borrelia burgdorferi*, *Rhipicephalus sanguineus*, zoonoses.

INTRODUÇÃO

A *Borreliose de Lyme* é uma zoonose cosmopolita, causada pela *Borrelia burgdorferi lato sensu* e transmitida por carrapatos ixodídeos {Johnson et al., (1984); Alves et al., (2004)}. Os cães servem como hospedeiros para ninfas e adultos de carrapatos do gênero *Ixodes*, bem como outras espécies de carrapatos (Bushmich, 1994).

A infecção no Brasil deve ser referida como *Borreliose de Lyme simile*, e sua principal manifestação clínica em humanos é o eritema migratório recidivante (Fonseca et al., 2005). Nos cães é determinada por uma síndrome musculoesquelética caracterizada pelo comprometimento das articulações, principalmente carpiana e tarsiana, com quadro de artrite severa (Lissman et al., 1984).

No Brasil, estudos soroepidemiológicos para *Borreliose*, por meio da técnica de ELISA indireto, foram realizados em humanos (Yoshinari et al., 1997); em cães (Joppert, 1995) e em bovinos {Fonseca et al., (1996); Ishikawa (1996)}. O primeiro caso de meningite de Lyme no Brasil foi descrito em Campo Grande, Mato Grosso do Sul (Costa et al., 1996).

O ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) indireto tem sido o método de diagnóstico mais empregado para verificar a presença de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi lato sensu* em animais e no homem (Magnarelli et al., 1984; Gordillo et al., 1999).

O Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande (CCZ) atende à população, recebendo animais com suspeita de zoonoses para coleta de materiais e realização de exames confirmatórios.

O presente trabalho teve por objetivo verificar a presença de anticorpos contra a *Borrelia burgdorferi* em cães provenientes do CCZ de Campo Grande, MS.

MATERIAL E MÉTODOS

O município de Campo Grande possui 8.096 km², está localizado geograficamente na posição central e ocupa 2,26% da área total de MS. A sede do município está localizada nas imediações do divisor de águas das bacias dos rios Paraná e Paraguai e defini-

da pelas coordenadas geográficas de 20°26'34" latitude Sul e 54°38'47" longitude Oeste, com altitude de 532 metros.

Coletou-se sangue por punção da veia cefálica de 180 cães provenientes do CCZ, de Campo Grande.

Foram levantados dados referentes a sexo, idade, raça, presença de carrapatos e restrição domiciliar. As amostras de soro sanguíneo foram acondicionadas em frascos tipo *eppendorf*, sendo mantidos até o momento da análise sorológica.

O antígeno de *Borrelia burgdorferi* cepa G39/40 de origem americana e também os soros controles positivos (1) e negativos (8) foram cedidos pelo Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Todas as 180 amostras de soros foram analisadas por meio do ELISA indireto padronizado por Soares et al. (1999b), e os procedimentos do ensaio seguiram a metodologia por ele descrita.

Realizou-se um estudo espacial por meio de mapas temáticos da cidade de Campo Grande, MS, a partir do endereço completo dos proprietários dos cães que foram utilizados.

Foi utilizado o teste não paramétrico *Quiquadrado* χ^2 , por meio do programa Microstat, para observação de possíveis diferenças significativas entre as frequências encontradas nos grupos de animais, de acordo com raça, sexo e idade. Adotado o nível de significância de 95%.

RESULTADOS

Dos 180 animais estudados, 132 (73,3%) foram reagentes ao ELISA indireto, com títulos de 1:400 (62,9%), 1:800 (28%), 1:1600 (8,3%) e 1:3200 (0,8%), enquanto 26,7% foram negativos (Tabela 1).

Os dados obtidos a partir do questionário epidemiológico revelaram que os cães sem raça definida (SRD) apresentaram a frequência de 74,36% de soropositividade para anticorpos IgG anti-*B. burgdorferi*, enquanto aqueles com raça definida (CRD) apresenta-

Tabela 1. Frequência sorológica de anticorpos anti-*Borrelia burgdorferi* em cães (n=180) provenientes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, MS, determinada por ELISA indireto

Título	Positivos (n°)	Frequência		Negativos (n°)
		Relativa	Absoluta	
1:400	83	62,9%	46,1%	-
1:800	37	28,0%	20,6%	-
1:1600	11	8,3%	6,1%	-
1:3200	1	0,8%	0,5%	-
Total positivos	132	100% (132/132)	73,3% (132/180)	-
Total negativos	-	-	26,7% (48/180)	48

Tabela 2. Frequência de *Borrelia burgdorferi* em cães do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, MS, 2004

Variáveis	Positivo	Negativo
Raça		
SRD (117)	74,36% (87)	25,64% (30)
CRD (63)	71,43% (45)	28,57% (18)
Sexo		
Fêmea (90)	70,00% (63)	30,00% (27)
Macho (90)	76,67% (69)	23,33% (21)
Faixa etária (anos)		
0 – 1 (34) ^a	47,06% (16)	52,94% (18)
1,1 – 3 (75) ^a	73,33% (55)	26,67% (20)
3,1 – 6 (35) ^{a,b}	91,43% (32)	8,57% (3)
6,1 – 9 (22) ^{a,b}	86,36% (19)	13,64% (3)
9,1 e mais (14) ^{a,b}	71,43% (10)	28,57% (4)
Restrição domiciliar		
Com (89)	70,79% (63)	29,21% (26)
Sem (91)	75,82% (69)	24,18% (22)

SRD – sem raça definida; CRD – com raça definida; () valores absolutos.^{a,b} diferença significativa $p < 0,05$

ram 71,43%. Não houve diferença significativa entre os dois grupos ($p < 0,05$). Tabela 2

Em relação ao sexo foram detectados 70% das fêmeas e 76,67% dos machos positivos e não houve também diferença significativa ($p < 0,05$).

A presença de *B. burgdorferi* nas faixas etárias estudadas nos cinco grupos revelou a frequência de soropositividade em 47,06% dos cães de 0 até 1 ano; 73,33% dos cães entre 1,1 a 3 anos; 91,43% entre 3,1 a 6 anos; 86,36% entre 6,1 a 9 anos e 71,43% dos animais acima de 9 anos. A análise estatística constatou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as faixas de 3,1 a 6 anos e os animais com idade superior a essa faixa.

A análise quanto à restrição domiciliar revelou que 70,79% dos cães que eram restritos ao ambiente domiciliar foram positivos, já para os cães que tinham acesso à rua, a positividade foi de 75,82%. Não houve diferença significativa entre a soropositividade observada nos cães com e sem restrição domiciliar.

O carrapato *Rhipicephalus sanguineus* foi a única espécie encontrada (15,6%) nos cães procedentes do CCZ.

Foram mapeados os endereços dos proprietários dos 180 cães, e destes, 132 mostraram-se soropositivos para *B. burgdorferi* e 48 foram soronegativos.

Observou-se maior concentração dos cães na região Sul e parte da Oeste de Campo Grande, tanto daqueles que apresentaram, na sorologia, anticorpos contra *B. burgdorferi*, como para os negativos. E essa concentração ocorreu nas regiões próximas ao CCZ, campus da Universidade Federal de Mato Grosso do

Sul, base aérea, aeroporto internacional e também próximo ao Hospital do Pênfigo.

DISCUSSÃO

Campo Grande é uma cidade onde se encontram áreas periféricas formadas por cerrados, ainda sem ocupação e duas reservas florestais integradas à cidade, onde habitam animais silvestres que podem ser os potenciais reservatórios de borrelias causadoras de doenças aos animais e ao homem (Costa et al., 2001).

A frequência de 73,3% (132/180) de cães soropositivos para *B. burgdorferi*, obtida neste trabalho, corrobora com os dados encontrados nas áreas endêmicas para Borreliose de Lyme nos EUA, onde se constata prevalência sorológica que varia de 40% a 89% de soropositividade nos cães (Burgess 1986; Fikrig et al., 1993). No Japão, Azuma et al., (1994) encontraram 76,19% de cães soropositivos no método ELISA.

A alta frequência obtida neste trabalho pode ser justificada em parte pelo fato dos cães serem procedentes do CCZ, onde há uma aglomeração de animais oriundos de regiões diversas, além de se tratar de uma amostra de cães com suspeita de alguma zoonose.

A utilização do teste ELISA padronizado em outra região e antígeno bruto, ao invés de recombinante, podem também justificar a alta frequência obtida, entretanto, essa metodologia tem sido utilizada em outros estudos similares no Brasil. A associação dos resultados com os dados epidemiológicos e os casos clínicos em humanos tem viabilizado e reforçado a importância deste tipo de pesquisa.

No trabalho de Naka (2005), foi encontrada a frequência de 29% de anticorpos anti-*B. burgdorferi* em 100 crianças que apresentavam manifestações clínicas e epidemiologia compatíveis com a síndrome de *Lyme-simile* no Estado de Mato Grosso do Sul. A maioria das crianças era procedente da zona urbana da cidade de Campo Grande e todos possuíam cães de estimação, que são competentes reservatórios de *Borrelia* sp. no ambiente domiciliar (Goossens et al., 2001).

A maior frequência de cães soropositivos e soronegativos encontrada na região Sul e parte do Oeste de Campo Grande, pode ser justificada principalmente pela grande densidade populacional canina das áreas próximas do CCZ, que propicia maiores infestações, principalmente por carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus*.

A proximidade com uma reserva florestal urbana localizada no campus da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e áreas de mata verde na região da base aérea, do aeroporto internacional e próximo ao Hospital do Pênfigo, também justificam a frequência aí encontrada.

A frequência de anticorpos anti-*B. burgdorferi* em cães varia de acordo com a região fisiográfica (Azuma et al., 1994; Wright et al., 1997; Soares et al., 1999a; Joppert et al., 2001), e mostra-se mais frequente em áreas endêmicas para a Borreliose humana (Lindenmayer, 1991).

O resultado observado neste estudo, revela um valor superior em relação à frequência encontrada no trabalho de Joppert et al., (2001), onde se identificou apenas 9,7% de soropositividade em cães provenientes de Cotia, São Paulo. Nessa mesma região foi relatada a soroprevalência de 7,5% em humanos, também pelo método ELISA indireto (Yoshinari et al., 1997). Na região da Baixada Fluminense, no Rio de Janeiro, foi demonstrada (ELISA indireto) a frequência de 20% de cães positivos em uma amostragem de 150 soros {Soares et al., (1999b). Já Alves et al., (2004) detectaram 48,25% de presença de anticorpos contra *B. burgdorferi* em cães da região metropolitana do Rio de Janeiro.

Os animais SRD apresentaram um acesso maior à rua e, conseqüentemente, maior probabilidade de contato com o carrapato vetor, sendo encontrada somente a espécie *R. sanguineus* (15,6%). Da mesma forma, Guerra & Brito (2004) e Torrence et al., (1990) também observaram essa espécie de carrapatos nos cães estudados e isto ocorreu, possivelmente, porque cães que têm acesso à rua apresentam maior exposição aos carrapatos, principalmente pela falta de controle parasitário.

O carrapato *R. sanguineus* pode ser sugerido como possível vetor responsável pela transmissão da *B. burgdorferi* nos cães. Espécimes de carrapatos foram coletados de animais selvagens e domésticos nas regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil e foram encontradas infestações por *R. sanguineus* em marsupiais e roedores, o que demonstra seu parasitismo em outras espécies de animais além dos caninos (Figueiredo et al., 1999).

Houve diferença significativa entre a ocorrência de anticorpos anti-*B. burgdorferi* e as faixas etárias a partir de três anos de idade. Isto se deve, provavelmente, porque esses animais têm mais acesso à rua e, em conseqüência, maior exposição ao agente. Assim como Magnarelli et al., (1984), que observaram

maior número de casos positivos, na IFI, nos cães de rua com idade superior a quatro anos de idade, e O'Dwyer (2000) que relata cães com idade superior a cinco anos apresentando maior positividade, Greene et al. (1988) encontraram cães positivos pelo método da IFI, em todas as faixas etárias, com maior prevalência em animais de um a cinco anos.

No Brasil, ainda não foi isolado o agente etiológico da doença de Lyme. Entretanto, os resultados das pesquisas realizadas mostraram a existência de um agente patogênico relacionado com carrapatos, capaz de estimular o sistema imune do hospedeiro a produzir anticorpos contra a amostra americana G 39/40 de *B. burgdorferi stricto sensu* (Naka, 2005).

Na epidemiologia, os títulos de anticorpos pesquisados neste trabalho não indicam doença, mas sim exposição ao agente. Entretanto, cães com sorologia positiva são considerados como indicadores do risco de transmissão do agente ao homem, já que constituem reservatórios para *Borrelia* sp. no ambiente domiciliar.

CONCLUSÃO

A alta frequência de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* encontrada em cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, corrobora a hipótese da presença de *Borrelia* sp. nessa região, já que existem casos clínicos confirmados da doença em crianças e adultos. Demonstra também, a importância da doença de Lyme *simile* como uma zoonose emergente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves A.L., Madureira R.C., Silva R.A., Corrêa F.N. & Botteon R.C.C.M. Frequência de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* em cães na região metropolitana do Rio de Janeiro. *Pesq. Vet. Bras.*, 24(4):203-206, 2004
- Azuma, Y.; Isogai, E.; Isogai, H. & Kawamura, K. Canine Lyme disease: clinical and serological evaluations in 21 dogs in Japan. *Vet. Rec.*, 134:369-372, 1994.
- Burgess, E.C. Natural exposure of Wisconsin dogs to the Lyme Disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *Laboratory Anim. Sci.*, 36(3):288-290, 1986.
- Bushmich, S.L. Lyme borreliosis in domestic animals. *J. Spirochetes and Tick-borne Diseases.*, 1(1):1-4, 1994.
- Costa, I.P.C. Relato de três casos clínicos, incluindo o primeiro relato de meningite de Lyme no Brasil. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo*, 51(6):253-257, 1996.
- Costa, I.P.C. Perfil clínico e laboratorial da doença de Lyme-símile no Estado do Mato Grosso do Sul: análise de 16 pacientes. *Rev. Bras. Reumatol.*, 41(3):142-150, 2001.
- Figueiredo, L.T.M. Report on ticks collected in the Southeast and Mid-West regions of Brazil: analyzing the potencial

- transmission of tick-borne pathogens to man. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 32(6):613-619, 1999.
- Fikrig, E. Serologic analysis of dogs, horses and cottontail rabbits for antibodies to an antigenic flagellar epitope of *Borrelia burgdorferi*. 1993. *J. Clin. Microbiol.*, 31(9):2451-2455, 1993.
- Fonseca, A.H. Lyme borreliose serology in cattle in Brazil. *Revista da Universidade Rural, série ciência da vida.*, 18(1/2):85-89, 1996.
- Fonseca, A.H. Borreliose de Lyme símile: uma doença emergente e relevante para a dermatologia no Brasil. *An. Bras. Dermatol.*, 80(2):171-178, 2005.
- Goossens, H.A.T. Dogs as sentinels for human Lyme borreliosis in the Netherlands. *J. Clin. Microbiol.*, 39(3):844-848, 2001.
- Gordillo, G. Serologic evidences suggesting the presence of *Borrelia burgdorferi* infection in México. *Archs. Med. Res.*, 30:64-68, 1999.
- Greene, R.T. Antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs in North Carolina. *Am. J. Vet. Res.*, 49(4):473-476, 1988.
- Guerra, R.M.S.N., & Brito D.R.B. Ixodofauna de mamíferos domésticos da Ilha de São Luiz, Estado do Maranhão, Brasil. *Entomol. Vect.*, 11(3):435-444, 2004.
- Ishikawa, M.M. Epidemiologia da borreliose de Lyme em bovinos na região sudeste do Brasil e padronização do diagnóstico sorológico. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 1996. 51p.
- Johnson, S.E. Lyme disease: a selective medium for isolation of the suspected etiological agent, a spirochete. *J. Clin. Microbiol.*, 19:81-82, 1984.
- Joppert, A.M. Estudo sorológico da infecção por *Borrelia burgdorferi* em cães da região de Cotia, São Paulo. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária e Zootecnia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 1995. 83p.
- Joppert, A.M. *Borrelia burgdorferi* antibodies in dogs from Cotia county, São Paulo State, Brazil. *Rev. Inst. Med. Tropica São Paulo.*, 43:251-255, 2001.
- Lindenmayer, J.M. Dogs as sentinels for Lyme disease in Massachusetts. *American Publication of Health.*, 81:1448-1455, 1991.
- Lissman, B.A. Spirochete-associated arthritis (Lyme disease) in a dog. *Javma.* 185(2):219-220, 1984.
- Magnarelli, L.A. Comparison of an indirect fluorescent-antibody test with an enzyme-linked immunosorbente assay for serological studies of Lyme disease. *J. Clin. Microbiol.*, 20:181-184, 1984.
- Naka, E.N. Pesquisa de anticorpos anti-*Borrelia burgdorferi* e anti-*Babesia bovis* em soro de crianças com manifestações clínicas e epidemiologia compatíveis com a síndrome de Lyme-símile no Estado de Mato Grosso do Sul. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2005. 88p.
- O'Dwyer, L.H.O de. Diagnóstico de hemoparasitoses e carrapatos de cães procedentes de áreas rurais em três mesorregiões do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária), Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2000. 114p.
- Soares, C.O. Sorologia para borreliose em cães procedentes da baixada fluminense, estado do Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 21(3):111-114, 1999a.
- Soares, C.O. Ensaio imunoenzimático indireto na detecção de anticorpos homólogos da classe IgG contra *Borrelia burgdorferi lato sensu* em cães. *Rev. Bras. Med. Vet.* 21:153-158, 1999b.
- Torrence, M.E. Serosurvey of shelter dogs in Virginia for antibodies to *Borrelia burgdorferi*. *Preventive Vet. Med.*, 10(1-2):41-46, 1990.
- Wright, J.C. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in dogs in Alabama, USA. *Prev. Vet. Med.*, 31:127-131, 1997.
- Yoshinari, N.H. Perfil da borreliose de Lyme no Brasil. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Méd. São Paulo.*, 52:111-117, 1997.