

ATUALIZAÇÃO

BRUCELLA CANIS – NOVO AGENTE DE BRUCELOSE CANINA

L. Barg*, A.M. Godoy* e J.N. Peres*

A bibliografia referente à brucelose canina por *Brucella canis* já é relativamente numerosa, apesar de ter ela sido descrita há menos de dez anos.

A susceptibilidade do cão às três espécies clássicas de *Brucella* é conhecida de longa data, porém o interesse pelo estudo da brucelose canina só foi despertado a partir das observações de CARMICHAEL³.

Casos de doença por *Brucella canis*, natural ou adquirida acidentalmente em laboratório, têm sido descritas, demonstrando um comportamento similar ao das espécies clássicas de *Brucella*, quanto ao seu potencial patogênico para o homem.

CARMICHAEL³, MOORE & DENNETT³¹ e TAUL, POWELL & BAKER⁴¹, investigaram a causa do aborto epizootico que era muito freqüente entre os cães de raça "Beagle", em diversas regiões dos Estados Unidos. Isolaram de tecidos fetais, corrimento vaginal, linfonodos e do sangue, um microorganismo de forma cocobacilar, Gram negativo, que na base de suas propriedades culturais, bioquímicas e sorológicas, foi classificado no gênero *Brucella*, sem contudo ser identificado como pertencente às espécies já conhecidas. MOORE & BENNETT³¹ denominaram provisoriamente a bactéria por eles isolada como "*Brucella canis*" apesar de reconhecerem que sua posição taxonômica deveria ainda ser estudada com mais detalhes.

CARMICHAEL & KENNEY⁷ diagnosticaram a doença em mais de 800 cães oriundos de 38 Estados da América do Norte. Verificaram que a brucelose canina era caracterizada por linfadenite e esplenite, mortes embrionárias primárias ou abortos

precoces não detectados, e aborto evidente aos 45-55 dias de gestação, com prolongada descarga vaginal. Nos machos infectados observaram epididimite, dermatite do escroto e atrofia testicular, freqüentemente unilateral, podendo eles se tornar estéreis. A bacteriemia persistente com duração de um ano era um fato de observação comum. Na ausência de sintomas clínicos, a infecção era detectada pelo teste de soro-aglutinação. Tendo observado a grande disseminação da doença nas criações de "Beagles" e admitindo a possibilidade de infecção humana, a amostra isolada e designada como RM6-66 foi enviada a especialistas, os quais verificaram características semelhantes aos microorganismos do gênero *Brucella*, porém com pequenas diferenças. Essa amostra foi designada como espécie tipo, e depositada na "American Culture Collection", com o n^o ATTC-23.365. Sugeriram o nome de *Brucella canis* para o microorganismo isolado do cão, sujeito à aprovação final do "Subcommittee on Taxonomy of *Brucella* of the International Committee on Bacteriological Nomenclature". Verificaram que 99% dos casos de aborto ocorrem em animais da raça "Beagle", e que os soros dos cães com títulos aglutinantes para *Brucella canis* não davam reações cruzadas com *Brucella abortus*. Não observaram até a época do trabalho, infecção humana natural, e nem em técnicos de laboratório que estiveram em contato com o germe por mais de um ano. Observaram que as alterações clínicas e patológicas são semelhantes às que ocorrem em outras espécies naturalmente infectadas com outras *Brucella*, porém em cães é uma doença benigna e não mortal.

* Trabalho do Lab. de Bact. de Zoonoses, Dept. Microbiologia ICB/UFMG.
Recebido para publicação em 25.5.1977

DIAZ, JONES & WILSON¹⁰ estudaram as relações antigênicas entre o microorganismo causador do aborto canino e as outras espécies de *Brucella* nas suas fases lisa e rugosa, verificando que aquele era semelhante às cepas rugosas de *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* e *Brucella ovis*, e diferente das amostras lisas. Observaram que desse germe não se consegue isolar a endotoxina-lipopolissacáride associada com o aglutinogênio das brucelas lisas, o que veio reforçar a proposição de CARMICHAEL & BRUNER⁵, para a designação da nova espécie, como "*Brucella canis*". A bactéria tem aproximadamente os mesmos antígenos superficiais das colônias rugosas de *Brucella* e dá pequena ou nenhuma reação cruzada com brucelas lisas.

Os estudos taxonômicos do agente do aborto canino foram realizados por JONES e cols.^{2,4}, que compararam esse microorganismo com as outras espécies de *Brucella* e com a *Bordetella bronchiseptica*; chegaram também à conclusão de que ele se enquadra no gênero *Brucella*, baseando-se em suas características culturais, bioquímicas e sorológicas. Aproxima-se mais da *Brucella suis* biotipo 3, sem contudo oxidar o eritritol. Por outro lado a *B. canis* é mais sensível à fucsina básica que a *B. suis* biotipo 3. Observaram ainda que o organismo isolado do cão não é aglutinado pelo antisoro preparado com cepas lisas de *B. abortus* ou *B. melitensis*, mas o é pelo antisoro obtido com cepas rugosas de *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. ovis*. Não verificaram ser as colônias rugosas mais sensíveis do que as lisas, à lise pela lisozima, e comprovaram os achados de DIAZ, JONES & WILSON¹⁰, que demonstraram ser o antígeno superficial do germe isolado do cão, semelhante ao das colônias rugosas de *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. ovis*. Estes autores propuseram a questão, se o microorganismo de origem canina deveria ser designado como *Brucella suis* biotipo 5 ou *Brucella canis*, preferindo os mesmos esta última, porque o germe não tem o antígeno lipopolissacárido associado com o aglutinogênio liso e endotoxina existente nas amostras clássicas de *Brucella* e também por não utilizar o eritritol.

CARMICHAEL & BRUNER⁵ caracterizaram morfológica, cultural e bioquimicamente o microorganismo isolado de tecidos de fetos caninos abortados, e o consideraram como causador de aborto e

infertilidade em cadelas. Concluíram que o germe pertence ao gênero *Brucella*, baseados nas propriedades sorológicas, estudos de patogenicidade em pequenos animais de laboratório e análise dos produtos do metabolismo por cromatografia a gás.

CARMICHAEL e cols.⁴ relatam pela primeira vez, dois casos de infecção humana por acidentes de laboratório.

ROYER & MC CULLOUGH^{2,3} fizeram estudos sobre a homologia do DNA de *B. ovis*, do microorganismo do aborto canino e de outras espécies de *Brucella* observando que o germe do aborto canino tem as seqüências de nucleotídeos semelhantes ao DNA da *B. suis*, e por inferência de dados prévios, à *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. neotomae*.

De uma criação de cães "Beagles" infectada por *B. canis*, MOORE, GUPTA & CONNER^{3,3} conseguiram erradicar a infecção, eliminando os cães com diagnóstico bacteriológico positivo. Entre os restantes, apesar de 71% deles terem títulos aglutinantes de 1:100 ou 1:200, não conseguiram isolar a *B. canis*.

FAIGEL¹¹ sugere chamar a brucelose canina de "febre dos Beagles". Observou que os filhotes que sobreviviam eram frequentemente fracos e tendiam a apresentar linfadenopatia. Durante seus estudos, relata que dois indivíduos que trabalhavam no laboratório se infectaram, e três semanas após o contato, apresentaram uma doença semelhante à gripe, que durou várias semanas. Os pacientes apresentaram aumento dos linfonodos cervicais, febre baixa, suores noturnos, mal estar e fadiga. De um dos indivíduos infectados foi isolado o agente do aborto canino, por hemocultura.

MOORE & KAKUK^{3,4} realizaram estudos bacteriológicos, sorológicos e histológicos em cães infectados pela *B. canis*, com e sem bacteriemia, porém todos com soro-aglutinação positiva. Alguns dos cães bacteriêmicos se recuperaram espontaneamente, e seus títulos aglutinantes diminuíram de 800 para 200. Os que permaneceram bacteriêmicos, mantiveram seus títulos de 800. Os autores isolaram a *B. canis* da urina dos cães infectados e observaram que, como essa localização do germe não ocorre em fêmeas, o isolamento nos machos seria devido à proximidade da glândula prostática e ductos deferentes com a bexiga.

MEYER²⁸, ao contrário de todos os autores, conclui em seu trabalho que as *Brucella* isoladas de abortos caninos, são membros da espécie *B. suis*, sugerindo que sejam classificadas como *Brucella suis* biotipo 5, e não como uma espécie separada. Contudo, como as amostras de *Brucella canis* são rugosas, não obteve nenhum dado consistente no teste de susceptibilidade das amostras ao fogo de *Brucella*.

MORRISSET & SPINK³⁵ relatam uma epizootia de aborto em um canil de "Beagles" com 178 animais, dos quais, os 37 filhotes não apresentaram evidência sorológica ou bacteriológica de infecção, apesar de expostos a mães infectadas, e de ter sido encontrada a *B. canis* no colostro de um fêmea que havia abortado. Admitiram que esses filhotes não apresentaram infecção, porque foram separados da mãe logo depois de desmamados e antes dos 3 meses, pois a placenta canina tem 6 camadas e essa espessura impediria a passagem de imunoglobulinas e bactérias da circulação da mãe para a do feto. Observaram que a bacteriemia pode ser demonstrada somente nos animais com títulos aglutinantes de 1:320 ou acima, e que a prova do 2-mercaptoetanol não podia ser usada para a detecção de anticorpos aglutinantes 7 S, porque o aquecimento da combinação soro-mercaptoetanol a 50°C, em seus testes, resultava na turvação do soro. Verificaram, ainda, que as aglutininas podem ser reveladas por um período de vários meses, e isolaram o germe de tecidos e sangue de animais aparentemente sadios, depois de um ano. Soros de animais infectados ou não, pareciam não ter nenhuma ação bactericida "in vitro" sobre a *B. canis*.

Observaram a doença em 2 pacientes humanos que trabalhavam no laboratório. Ambos apresentaram títulos aglutinantes de 1:320, e a *B. canis* foi isolada do sangue de um deles. A tetraciclina foi usada com êxito no tratamento.

MOORE³⁰ numa revisão sucinta, relata que o único animal que apresenta infecção natural pela *B. canis* é o cão, e a maioria dos animais envolvidos pertence à raça "Beagle", mas a infecção também pode ser observada em outras raças como: Weimaraners, Foxhounds, Old English Sheep-dogs, Pointers e Greyhounds.

DEYOE⁹ fez estudos sobre a patogenicidade do agente do aborto canino, inoculando cães e outras espécies de animais.

Comparou a infecção por *B. canis* com a infecção por *B. suis* em cães; a infecção por *B. canis* foi caracterizada por grande número de microorganismos "in vitro", mas um período de incubação prolongado antes que se desenvolvessem alterações patológicas discerníveis, e a *B. suis* apresentou características opostas. O autor expôs bovinos, ovinos e suínos à *B. canis* por via conjuntival, para determinar sua susceptibilidade ao microorganismo, não verificando nenhum desenvolvimento de infecção nas 6 novilhas prenhas testadas, mas observou ligeira elevação na resposta de anticorpos. Seis dentre doze suínos inoculados (fêmeas prenhas e machos sexualmente maduros) não desenvolveram infecção sistêmica, mas sim, infecção localizada nos linfonodos da cabeça. Sete dentre doze carneiros inoculados, apresentaram infecção sistêmica passageira. Efeitos clínicos ou patológicos de infecção por *B. canis* não foram observados em nenhuma das espécies testadas, concluindo o autor que é ocorrência rara a infecção transmissível por esse microorganismo a outros animais domésticos além do cão. Verificou que a *B. canis* foi de baixa virulência para cobaias, em comparação com outras *Brucella*, e que macrófagos peritoneais de cobaias normais foram mais capazes de fagocitar e destruir *B. canis* que *B. suis*. Concluiu que a *B. canis* é distinguível de outras brucelas lisas e rugosas, é um organismo distinto, causa uma doença específica em cães e tem um espectro limitado de infecciosidade.

HILL e cols.¹⁹, MCCORMICK e cols.²⁷ e VAN HOOSIER e cols.⁴⁴ realizaram estudos epizootológicos do aborto canino, focalizando os aspectos clínicos, medidas de controle, características da *B. canis* e resposta imune dos animais e das pessoas em contato com esse germe.

Uma revisão dos aspectos epizootológicos, diagnóstico e controle foi realizada por MOORE & GUPTA³². O não isolamento de *B. canis* de animais com títulos de 1:100 e 1:200 e a observação de que alguns cães bacteriêmicos, depois de algum tempo tornam-se abacteriêmicos, com diminuição concomitante do título de 1:200 para 1:100 ou 1:200, levaram os autores a realizar experiências sobre o estado imune destes animais. Cães recuperados da doença ou com títulos aglutinantes sempre baixos foram infectados por via oral, com 10^6 a 10^{10} células de *B. canis*. Somente um cão se

infectou entre os doze com título baixo. Nenhum dos recuperados¹¹ se infectou. Concluíram que aparentemente o estado imune era devido mais à imunidade celular do que humoral.

ANDERSON e cols.⁷ relatam um caso de infecção humana pelo organismo do aborto canino em uma senhora. O microorganismo foi identificado como *B. canis*, tendo o soro da paciente fornecido um título de 1:250 para esse organismo. Verificaram posteriormente que a paciente havia sido infectada por um cão Pastor Alemão, de sua propriedade, que deu um título de 1:500, e do qual foi isolado o mesmo germe.

HALL & MANION¹⁷ estudaram o comportamento de 27 amostras de 6 espécies de *Brucella* inclusive a *B. canis*, frente a vários antibióticos, tendo sido as tetraciclinais as mais eficientes.

MITRUKA & ALEXANDER²⁹ verificaram ser possível a diferenciação da *B. canis* de outras espécies de *Brucella* por cromatografia a gás.

GLEISER e cols.¹⁴ estudaram as alterações patológicas em cães infectados por *B. canis*, e SHIFRINE e cols.³⁹ estudaram a resposta de fetos caninos e neonatos, ao estímulo antigênico. Observaram que fetos infectados com *B. canis* no 50º dia gestação, e mortos 9 dias depois, demonstraram presença de anticorpos aglutinantes, indicando que se tornaram competentes para a produção de anticorpos no período próximo ao nascimento. A necrópsia, observaram extensa hiperplasia linforreticular no pulmão, baço, fígado e linfonodos. Reisolaram o microorganismo do pulmão e do fígado.

HALL¹⁶ acha que usualmente a infecção brucélica canina é restrita ao próprio cão, raramente podendo este funcionar como veículo de transmissão da infecção a outros animais domésticos ou ao homem. Relata que isolou 13 amostras de fagos de brucela, de fezes e coágulo sanguíneo de cães infectados com *B. canis*. Duas amostras de fagos lisaram 4 amostras de *B. canis* e uma de *B. suis* biotipo 5. Também algumas amostras de *B. abortus* e *B. neotomae* foram lisadas, mas não as de *B. melitensis*.

LEWIS²⁵ fez uma pesquisa sorológica em 650 cães, para determinação de títulos aglutinantes para *B. canis*. Destes, 503 (77,4%) deram títulos incompletos de 25 ou acima e 123 (18,7%) deram títulos de 100

ou acima. Dos 3 grupos testados (mestiços, de raça pura e cães de caça), os cães de caça revelaram maior percentagem de positividade com títulos de 1:100 ou acima (299,9%) em 64 cães, sendo a incidência em machos e fêmeas, semelhante. Os mestiços vieram em 2º lugar, 13,6% (47 cães) e em seguida os de raça pura, 13,2% (12 cães). Supõe-se que a maior incidência da infecção em "Beagles" seja devida ao fato da criação dos mesmos em canis, em condições de confinamento, com constante entrada e saída de animais, bem como troca de reprodutores entre os diversos canis.

SWENSON, CARMICHAEL & CUNDY⁴⁰ relatam um caso de infecção humana em condições naturais (o 1º na opinião dos autores). A paciente parece ter adquirido a infecção de um cão (Pastor Alemão) do qual também se isolou a *B. canis*. Hemoculturas e soro-aglutinações realizadas em 12 membros da família, forneceram resultados negativos. Os autores chamam a atenção para o achado não usual, de um cão infectado na comunidade, e não em condições de confinamento como é o caso das "Beagles", e como a família em questão não conhecia a história pregressa desse cão, concluem que talvez o mesmo tenha vivido antes em confinamento, tendo se infectado em algum canil e se tornado bacteriêmico por um prolongado período de tempo. Chamam também a atenção para o fato da ineficiência da antibioticoterapia na erradicação da infecção canina, enquanto que nos seres humanos, há um marcado contraste na aparente eficácia dos antibióticos nos poucos casos relatados e neste, sendo desconhecidas as razões para essa diferença.

PICKERJILL & CARMICHAEL³⁸ realizaram um programa de controle da brucelose canina em 2 canis comerciais na Pensilvânia e observaram o efeito dessa infecção na reprodução, que foi semelhante a de outras espécies infectadas com brucela, isto é, perdas por aborto e interferência com a reprodução.

PERCY, EGWU & JONAS³⁷ infectaram experimentalmente macacos (*Macaca arctoides*) com *B. canis*, por via oral e conjuntival, e intravenosa, obtendo culturas positivas de sangue duas semanas após a incubação, e títulos aglutinantes de 1:1.280. Lesões granulomatosas focais foram observadas nas vísceras e tecido linfóide.

LEWIS & ANDERSON²⁶ pesquisaram a

incidência de aglutininas para *B. canis* em soros de militares (recrutas), num total de 1.208 indivíduos. O título de 1:100 ou acima foi considerado como "positivo". Entre os soros examinados, encontraram 5 positivos (0,4%), sendo dois com títulos de 1:100, 2 apresentando títulos de 1:200 e um de 1:400. Não foi possível aos autores conseguir registros clínicos desses indivíduos. Assim, nenhuma informação sobre a doença consta no trabalho. Este é o primeiro estudo feito na população humana, para verificação da presença de aglutininas para *B. canis* e o fato de que 0,4% da população estudada tenha apresentado títulos significantes (1:100 ou acima) para *B. canis*, sugere que a incidência de brucelose humana clínica e subclínica, devida a esse microorganismo, é muito baixa. Entretanto, se a incidência de títulos significantes relatados é pequena, o mero fato de sua ocorrência pode ser de importância epidemiológica. Não puderam estabelecer se as pessoas estiveram expostas à *B. canis*, afirmando ainda que elas poderiam ter sido expostas a algum agente até agora desconhecido, que produziria uma reação cruzada com o antígeno de *B. canis*, produzindo, assim, um resultado falso positivo no teste de sono-aglutinação.

DAMP, CRUMRINE & LEWIS⁸ utilizaram para a pesquisa de aglutininas anti-*B. canis*, a prova em micro-placa, verificando resultados semelhantes aos obtidos com o método de aglutinação em tubos, e que o micro-teste fornece um meio econômico de seleção de soros positivos, usando-se uma quantidade mínima de equipamento, tempo, reagentes e soro.

HOFF & NICHOLS²¹ realizaram inquérito sorológico visando à presença de aglutininas para *B. canis* em 274 cães apreendidos, 167 trabalhadores e 43 veterinários. Observaram que 10 cães (3,65%) e um trabalhador (0,59%), apresentaram títulos aglutinantes de 1:200 ou acima para *B. canis*. Entre os veterinários nenhum apresentou sorologia positiva para esse germe. Afirmando que embora a doença tenha sido reconhecível e controlável em cães, pouco é conhecido com relação à infecção por esse germe em cães de rua ou domésticos. Dos animais por eles testados, a maioria era mestiça.

HOFF e cols.²⁰ pesquisaram aglutininas para *B. canis* nos soros de 770 animais silvestres e apenas 5 (1 quati (racoon), 1 linco, 1 raposa vermelha e 2 coiotes) foram

positivos na diluição de 1:200. Não realizaram tentativas de isolamento da *Brucella*.

A presença da *B. canis* num canil, foi também observada por HARRIS e cols.¹⁸ nos EUA.

VON KRUEDENER^{4,6} na Alemanha, isolou *B. canis* de animais de uma criação de "Beagles" na qual havia ocorrência de aborto.

UEDA e cols.⁴² observaram em Tóquio, 3 casos de brucelose em cães com aglutininas anti-*B. canis*, com isolamento da mesma em todos os casos. UEDA e cols. (1974)⁴³, em outro trabalho, pesquisaram a *B. canis* em um canil, através de testes bacteriológicos e sorológicos, obtendo resultados positivos em todos eles.

GODOY e cols.¹⁵ observaram a ocorrência de *B. canis* no Brasil, através de provas sorológicas em soros caninos e humanos, tendo isolado a mesma de uma cadela com história de aborto recente.

GEORGE & CARMICHAEL¹³ utilizaram com êxito, para o diagnóstico da brucelose canina por *B. canis*, um antígeno para método rápido (aglutinação em placa), preparado com uma cultura morta e corada de *B. ovis*.

HOFF & SCHNEIDER²² examinando 303 soros humanos, encontraram aglutininas anti-*B. canis* em 3, sendo que apenas em um, o título era significativo (1:400) e nos dois restantes o título era de 1:50.

VERGER e cols.⁴⁵ isolaram em Madagascar, de uma cadela com história de aborto e corrimento vaginal sanguíneo, em paralelo com culturas representativas de outras espécies *Brucella*. Foi colocada por suas características, no gênero *Brucella*; os autores são mais favoráveis à classificação do microorganismo isolado como *Brucella suis* biotipo 5 de acordo com MEYER (1969). Assinalam ainda que antes deste isolamento, a brucelose animal ou humana era desconhecida na ilha.

BLANKENSHIP, USAF & SANFORD² observaram um caso de infecção humana por *B. canis*, adquirida provavelmente por contato com um cão doente, caracterizado por febre intermitente e bacteriemia durante um período de quatro meses.

Em 1975, MUNFORD e cols.³⁶ observaram dois casos de brucelose humana por *Brucella canis*, adquiridos provavelmente por contato com cães domésticos infectados.

WEBER & SCHLISSER⁴⁷ na Ale-

manha, obtiveram num canil experimental, provas sorológicas positivas para *B. canis*, com títulos que variavam de 1:50 a 1:3.200, tendo isolado este microorganismo dos animais com títulos de 1:100 ou maiores.

CARMICHAEL & GEORGE⁶ em breve revisão, apresentam as características morfológicas, clínicas, patológicas e epizootológicas da *B. canis* considerando também o problema dos testes sorológicos no diagnóstico da doença causada por esse microorganismo.

FLORES-CASTRO & SEGURA¹² pesquisaram aglutininas para *B. canis* em 203 soros humanos e 500 soros caninos no México, observando títulos positivos (1:100

ou maiores) em 27 (13,3%) dos soros humanos e em 140 (28,0%) dos soros caninos. A *Brucella canis* foi isolada do sangue de 8 cães.

CONCLUSÕES

Foi feito levantamento bibliográfico da situação atual da brucelose canina e humana causada por *Brucella canis*, desde as observações iniciais de CARMICHAEL em 1966³. Até o momento, a *B. canis* foi identificada nos seguintes países: Estados Unidos da América do Norte, Japão, Alemanha Ocidental, Ilha de Madagascar, Brasil e México.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, T.G.; BERNHARDT, E.; CUNDY, K.R.; SWENSON, R.M.; CARMICHAEL, L.E.; WERRIN, M.; SCHRACK JR., W.D.; WITTE, E.J.; COCKIN, J.R. & BROWN, G.M., Human infection with the organism of canine abortion. *Morbidity and Mortality. Weekly Report*, 19 (23):224-225, 1970.
2. BLANKENSHIP, R.M.; USAF, LT COL; SANFORD, J.P., *Brucella canis*. A cause of Undulant Fever. *Am. J. Med.*, 59 (3):424-426, 1975.
3. CARMICHAEL, L.E. Abortion in 200 Beagles. (News Report). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 149:1126, 1966.
4. _____; BAROL, S.R.; BROAD, R.H. & FREITAG, J.L. Human infection with the agent of abortion. *Morbidity and Mortality. Weekly Report*, 17:286, 1968.
5. _____ & BRUNER, D.W. Characteristics of a newly recognized *Brucella* species responsible for infections canine abortions. *Cornell Vet.*, 58:579-592, 1968.
6. _____ & GEORGE, L.W. Canine Brucellosis: Newer knowledge - International Symposium on Brucellosis (II), Rabat. *Develop. Biol. Standard*, Vol. 31, pp. 237-250 (S. Karger, Basel, 1976), 1975
7. _____ & KENNEY, R.M. Canine abortion caused by *Brucella canis*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 152:605-616, 1968.
8. DAMP, S.C.; CRUMRINE, M.H. & LEWIS JR., G.E. Microtiter Plate Agglutination Test for *Brucella canis* antibodies. *Appl. Microbiol.*, 25:482-490, 1973.
9. DEYOE, B.L. *Studies on the pathogenesis of a canine abortion agent (B. canis) in dogs and other animals*. Ames, Iowa State University, Ph. D. Thesis, 1970.
10. DIAZ, R.; JONES, L.M. & WILSON, J.B. Antigenic relationship of Gram negative organism causing canine abortion to smooth and rough Brucellae. *J. Bacteriol.*, 95:618-624, 1968.
11. FAIGEL, H.C. Beagle Fever - Canine Brucellosis - *Clin. Pediatr.*, 8:59, 1969.
12. FLORES-CASTRO, R. & SEGURA, R. A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in Mexico. *Cornell Vet.*, 66:347-352, 1976.
13. GEORGE, L.W. & CARMICHAEL, L.E. A plate agglutination test for the rapid diagnosis of Canine Brucellosis. *Am. J. Vet. Res.*, 35 (7):905-909, 1974.
14. GLEISER, C.A.; SHELDON, W.G.; VAN HOOSJER, G.L. & HILL, W.A. Pathogenic changes in dogs infected with a *Brucella* organism. *Lab. Anim. Sci.*, 21 (4):540-545, 1971.
15. GODOY, A.M.; PERES, J.N. & BARG, L. Ocorrência da *Brucella canis* no Brasil. *Anais do V Congresso Brasileiro de Microbiologia*, pág. 77-78, 1974.
16. HALL, W.H., Editorial - Epidemic bru-

- cellosis in Beagles. *J. Infect. Dis.*, 124:616-618, 1971.
17. _____ & MANJON, R.E. In vitro susceptibility of *Brucella* to various antibiotics. *Appl. Microbiol.*, 20:600-604, 1970.
 18. HARRIS, A.M.; HORTON, M.L.; LETSCHER, R.M.; McCONNELL, E.E. & NEW, A.E. Enzootic *Brucella canis*: An occult disease in a research canine colony. *Lab. Anim. Sci.*, 24 (5):796-799. Apud: _____ et al. 1975. *Microbiol. Abstr.*, 59 (4):2191, 1974.
 19. HILL, W.A.; VAN HOOSJER, G.L. & McCORMICK, N. Enzootic abortion in a canine production colony - 1 - Epizootiology, clinical features and control procedures. *Lab. Anim. Care*, 20:205-208, 1970.
 20. HOOFF, G.L.; BIGLER, W.J.; TRAINER, D.O.; DEBBIE, J.G.; BROWN, G.M.; WINKLER, W.G.; RICHARDS, S.H. & REARDON, M. Survey of carnivore and opossum sera agglutinins to *Brucella canis*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 165:830-831, 1974.
 21. _____ & NICHOLS, J.B. Canine Brucellosis in Florida* Serological survey of pound dogs, animal shelter workers and veterinarians. *Am. J. Epidemiol.*, 100 (1):35-39, 1974.
 22. _____ & SCHENEIDER, N.J. Serological survey for agglutinins to *Brucella canis* in Florida residents. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 24 (1):151, 1975.
 23. HOYER, B.H. & McCULLOUGH, N.B. Homologies of deoxiribonucleic acids from *Brucella ovis*; canine abortion organisms and other *Brucella* species. *J. Bacteriol.*, 96:1783-1789, 1968.
 24. JONES, L.M.; ZANARDO, M.; LEONG, D. & WILSON, J.B. Taxonomic position in the genus *Brucella* of the causative agent of canine abortion. *J. Bacteriol.*, 95:625-630, 1960.
 25. LEWIS, G.E. A serologic survey of 650 dogs to detect titers for *Brucella canis*. *J. Anim. Hosp. Assoc.*, 8:102-107, 1972.
 26. _____ & ANDERSON, J.K. The incidence of *Brucella canis* antibodies in sera of military recruits. *Am. J. Public Health*, 63 (3):204, 1973.
 27. McCORMICK, N.; HILL W.A.; VAN HOOSJER JR., G.L. & WENDE, R. Enzootic abortion in a canine production colony. 2 - Characteristics of the associated organism evidence for its classifications as *Brucella canis*, and antibody study on exposed humans. *Lab. Anim. Care*, 20:209-214, 1970.
 28. MEYER, M.E. *Brucella* organisms isolated from dogs: Comparison of characteristics of members of the Genus *Brucella*. *Am. J. Vet. Res.*, 30:1751-1756, 1969.
 29. MITRUKA, B.M. & ALEXANDER, M. Differentiation of *Brucella canis* from other brucella by gas chromatography. *Appl. Microbiol.*, 20 (4):649-650, 1970.
 30. MOORE, J.A. *Brucella canis* infection in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 155:2034-2052, 1969.
 31. _____ & BENNETT, M.A. A previously undescribed organism associated with canine abortions. *Vet. Rec.*, 80:604-605, 1967.
 32. _____ & GUPTA, B.N. Epizootiology, diagnosis and control of *Brucella canis*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 156:1737-1740, 1970.
 33. _____; _____ & CONNER, G.H. Eradication of *B. canis* from a dog colony. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 153:523-527, 1968.
 34. _____ & KAKUK, T.J. Male dogs naturally infected with *Brucella canis*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 155:1352-1358, 1969.
 35. MORRISSET, R. & SPINK, W.W. Epidemic canine brucellosis due to a new species, *Brucella canis*. *Lancet*, 2:1000-1002, 1969.
 36. MUNFORD, R.S.; WEAVER, R.E.; PATTON, C.; FEELEY, J.C. & FELDMAN, R.A., Human disease caused by *Brucella canis*: A clinical and epidemiological study of two cases. *J. Am. Med. Assoc.*, 231 (12):1267-1269. Apud: _____ et al. 1975. *Microbiol. Abstr.* 60 (1):323, 1975.
 37. PERCY, D.H.; EGWU, J.N. & JONAS, A.M. Experimental *Brucella canis* infection in the monkey (*Macaca arctoides*). *Can. J. Camp. Med.*, 36 (3):221-225, 1972.
 38. PICKERJLL, P.A. & CARMICHAEL, L.E. Canine Brucellosis. Control programs in commercial kennels and effect on reproduction. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 160:1607-1615, 1972.
 39. SHIFRINE, M.; SMITH, J.B.; BULGIN, M.S.; BRYANT, B.J.; ZEE, YUAN-

- CHANG & OSBURN, B.J. Response of canine fetuses and neonates to antigenic stimulation. *J. Immunol.*, 107 (4):965-970, 1971.
40. SWENSON, R.M.; CARMICHAEL, L.E. & CUNDY, K.R. Human infection with *Brucella canis*. *Ann. Intern. Med.*, 76 (3):435-438, 1972.
41. TAUL, L.K.; POWELL, H.S. & BAKER, O.E. Canine abortion due to an unclassified Gram-negative bacterium. *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, 73:543-544, 1967.
42. UEDA, K.; SAEGUSA, J.; FUGIWARA, K.; MUTO, S.; OKADA, K.; HASEGUA, A.; SAEGUSA, S. & USUI, K. Detection of *Brucella canis* infection in dogs from Tokio area. *Jap. J. Vet. Sci.*, 36 (6):539-542. Apud: _____ et al. 1975. *Microbiol. Abstr. (B)*, 10 (6):10B6776, 1974.
43. UEDA, K.; MAGARIBUCHI, T.; SAEGUSA, J.; URANO, T.; ITOH, K.; KIUCHI, Y. & FUGIWARA, K. Spontaneous *Brucella canis* infection in beagles: Bacteriological and serological studies. *JPN. J. Vet. Sci.*, 36 (5):381-390. Apud: _____ et al. 1975. *Microbiol. Abstr.*, 60 (1):326, 1974.
44. VAN HOOSJER, G.L.; McCORMICK, N. & HILL, W.A. Enzootic abortion in a canine production colony: 3 - Bacteriemia, antibody response and Mercaptoetanol sensitivity of agglutinins. *Lab. Anim. Care*, 20:964-968, 1970.
45. VERGER, J.M.; CÂTÉ, M.; CHATELAIN, R.; RAMISSE, J. & BLANCOU, J. Isolement de *Brucella suis* biotype 5 à Madagascar, chez une chienne. Validity du nom d'espece *Brucella canis*. *Ann. Microbiol. (Grance)*, 126 A:57-74, 1975.
46. VON KRUEDENER, R.B. Isolierung und bestimmung von *Brucella canis* aus einem Beaglebestand. *Zentralbl. Veterinaermed. (B)*, 21:307-310, 1974.
47. WEBER, A. & SCHLJESSER, T. Serological and cultural demonstration of *Brucella canis* in beagles in an experimental kennel. *Zentralbl. Veterinaermed., Reihe B*, 22 (5):403-410. Apud: _____ et al. 1976. *Microbiol. Abstr.*, 61 (2):900, 1975.