



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MEDICINA VETERINARIA

PRISCILA ALENCAR BESERRA

OCORRÊNCIA DE BRUCELOSE (*Brucella abortus*) EM BÚFALOS (*Bubalus bubalis*) ABATIDOS EM FRIGORÍFICOS SOB INSPEÇÃO MUNICIPAL DO ESTADO DO MARANHÃO

São Luís – MA
2016

PRISCILA ALENCAR BESERRA

**OCORRÊNCIA DE BRUCELOSE (*Brucella abortus*) EM BÚFALOS (*Bubalus bubalis*)
ABATIDOS EM FRIGORÍFICOS SOB INSPEÇÃO MUNICIPAL DO ESTADO DO
MARANHÃO**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Curso de Medicina
Veterinária da Universidade Estadual
do Maranhão-UEMA, como requisito
para obtenção do título de Bacharel
em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Hamilton Pereira Santos

São Luís – MA
2016

PRISCILA ALENCAR BESERRA

**OCORRÊNCIA DE BRUCELOSE (*Brucella abortus*) EM BÚFALOS (*Bubalus bubalis*)
ABATIDOS EM FRIGORÍFICOS SOB INSPEÇÃO MUNICIPAL, DO ESTADO DO
MARANHÃO**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Curso de Medicina
Veterinária da Universidade Estadual do
Maranhão-UEMA, como requisito para
obtenção do título de Bacharel em
Medicina Veterinária.

Aprovado em: 05/12/2016

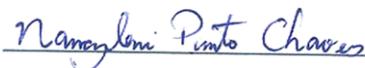
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Hamilton Pereira Santos
(Orientador)



Ms. Emerson Antônio Araújo de Oliveira
(1º Membro)



Prof. Drª. Nancyleni Pinto Chaves
(2º Membro)

*Não chores, meu filho;
Não chores, que a vida
É luta renhida: Viver é lutar.
A vida é combate, que os fracos abate,
Que os fortes, os bravos, só pode exaltar.*

Gonçalves Dias

AGRADECIMENTOS

Deus, em sua infinita bondade, pela vida de cada um dos que cito aqui, que proporcionaram a continuidade do meu sonho. Pai, toda glória é tua. Foram tantos empecilhos, porém pausados por momentos de felicidade que eu tive a honra de dividir com muitas estas.

Agradeço aos meus avós, Maria Dama de Alencar e Francisco Evangelista, pela educação e trabalho dedicado a família a qual pertenço. Minha mãe por ter repassado os valores de lealdade e respeito, perpetuados do seio familiar. A minha tia, Vera Lúcia Alencar, por me receber e tratar como filha, vibrando, aconselhando e torcendo por cada vitória. Aos meus tios, Edenilde Borges, Edilson Milhomem, e Francisca Borges por me acolheram e depositaram apoio e confiança, desde o ensino médio até os dias atuais. Sem vocês, nada disso existiria.

Ao meu mestre, orientador e muitas vezes quase pai, Hamilton Pereira Santos, pelas palavras de carinho, atenção, um exemplo de humildade, respeito e profissional.

Aos meus grandes amigos (as) e parceiros (as) Bruna Shirakubo, Beatriz Rocha, Rayane Mary, José Luiz, Juliana Alves, Lorena Souto, Felipe Chaves, Leandro Veiga, pelas horas de conversa, carinho, conselhos, cuidado, apoio e distração.

Aos pais de Bruna Shirakubo, Sr^a. Ione Shirakubo, Sr. Milton Araújo pelo acolhimento, carinho e atenção a mim destinados, exemplos de humildade e trabalho honesto.

Aos pais de Beatriz Rocha, Sr. Raimundo e Sr^a Maria, por me acolherem e confiarem, se dispondo a ajudar em qualquer eventualidade.

Ao Médico Veterinário, Emerson Araújo, pelo carinho, confiança, oportunidade de aprendizado, puxadas de orelha, força e paciência ao longo de minha iniciação científica.

Aos fiscais Agropecuários (as), Adriana Prazeres, Layza Freitas, Anna Karoline Amaral, Francisco Alberto e Robert Barroso, pelo carinho e palavras de apoio, vocês são exemplos de força que seguirei sempre.

À equipe de laboratório mais dedicada que já vi, Juliana Alves, Anna Karoline, Lorena Souto, Felipe Chaves, Amanda Taylla, Ana Karlaylle, Leandro Veiga, Pablo Sousa, Thais e Bastos e Carol Rocha, pelo empenho, dedicação e trabalho duro.

A Universidade Estadual do Maranhão pela minha formação.

Aqueles que contribuíram de forma direta ou indiretamente, para que minha formação se concretizasse, e ultrapassasse mais essa etapa.

RESUMO

O presente estudo objetivou diagnosticar brucelose (*Brucella abortus*) em búfalos (*Bubalus bubalis*) abatidos em frigorífico sob inspeção municipal, dos municípios de São Luís, Arari e Viana. A amostragem foi definida por conveniência, em razão da disponibilidade de animais desta espécie, abatidos nesses locais. Foram submetidos ao teste de AAT, 155 amostras de soro, provenientes de fêmeas e machos com idade superior a 36 meses de idade destinadas ao abate. Do quantitativo amostrado, 9,6% (15/155) apresentaram-se positivas no teste de AAT e foram levadas a prova confirmatória do 2-Mercaptoetanol, onde 5,16% (8/155) foram confirmadas como positivas para *Brucella abortus*, com títulos de anticorpos variando entre 1:25 e 1:100. Deste quantitativo, 5,26% (1/19) eram provenientes do frigorífico de São Luís, 6,55% (4/61) de Arari, e 4,00% (3/75) de Viana. Esse resultado demonstra que a brucelose bubalina se encontra presente nos bubalinos destinados ao abate, com prevalência acima da média nacional que está entre 4,0% e 5,0%, sugerindo medidas sanitárias mais rigorosas no que diz respeito a trânsito animal e a sanidade dos animais presentes na linha de abate.

Palavras-chave: *Brucella abortus*, búfalos, frigorífico, Antígeno Acidificado Tamponado, 2-Mercaptoethanol.

ABSTRACT

The present study aimed at diagnosing brucellosis (*Brucella abortus*) in buffaloes (*Bubalus bubalis*) slaughtered in meat packing under municipal inspection, from the cities of São Luís, Arari and Viana. The sample was defined by convenience, due to the availability of animals of this species slaughtered in these places. The Rose Bengal test consisted of 155 serum samples from females and males over 36 months of age destined for slaughter. From the quantitative sample, 9.6% (15/155) were positive in the Rose Bengal test and were taken to the confirmatory 2-Mercaptoethanol test, where 5.16% (8/155) were confirmed as positive for *Brucella abortus*, with titres between 1:25 and 1:100. Quantitative test, 5.26% (1/19) were from the slaughter house of São Luis, 6.55% (4/61) de Arari, and 4.00% (3/75) from Viana. This result shows that bovine brucellosis is found of buffaloes intended for slaughter, prevalence above the national average that is between 4.0% e 5.0%, suggesting stricter sanitary measures with regard to animal transport and sanity of animals present on the slaughter line.

Keywords: *Brucella abortus*, buffaloes, slaughterhouse, Rose Bengal Teste, 2 – Mercaptoetanol.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapa do Estado do Maranhão representando os municípios incluídos na pesquisa..... 19
- Figura 2.** A) Execução da técnica do AAT. B) Leitura do teste. C) Reação positiva – Formação de grumos. D) Reação Negativa – Translúcida..... 22
- Figura 3.** Em “1” amostra negativa - Tubo “A” contendo o teste de SAL com formação de grumos, mas em “B”, a prova do 2-ME apresenta aspecto translúcido. Em “2” a combinação considerada positiva, onde observa-se em ambas as provas (A e B) a formação de grumos..... 23

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Distribuição das 155 amostras coletadas em frigoríficos sob SIM (Sistema Inspeção Municipal) dos municípios de São Luís, Arari e Viana, Maranhão, Brasil, 2016..... 20
- Tabela 2.** Distribuição da frequência de bubalinos submetidos aos testes de AAT, SAL e 2-ME, provenientes dos frigoríficos sob SIM (Sistema de Inspeção Municipal) dos municípios de São Luís, Arari e Viana, Maranhão, Brasil, 2016..... 23
- Tabela 3.** Titulação dos animais positivos provenientes dos frigoríficos sob SIM (Sistema de Inspeção Municipal) dos municípios de São Luís, Arari e Viana, Maranhão, Brasil (2016) submetidos ao teste do 2 – Mercaptoetanol..... 24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μL	Microlitros
2-ME	2 – Mercaptoetanol
AAT	Antígeno Acidificado Tamponado
AGED	Agência de Defesa Agropecuária do Maranhão
GTA	Guia de Trânsito Animal
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LDDI	Laboratório de Diagnóstico de Doenças Infecciosas
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeira da Polimerase
PNCEBT	Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose
RPM	Rotações por minuto
RT	Responsável Técnico
SAL	Soroaglutinação Lenta em Tubos
SIM	Sistema de Inspeção Municipal
UEMA	Universidade Estadual do Maranhão

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Bubalinocultura	14
2.2 Histórico da brucelose	14
2.3 Brucelose no Brasil	14
2.4 Brucelose em Búfalos	15
2.5 Agente Etiológico	15
2.6 Resistência	16
2.7 Aspectos epidemiológicos	16
2.8 Transmissão	17
2.9 Zoonose	17
2.10 Diagnóstico	18
2.11 Perdas econômicas	20
3 METODOLOGIA	21
3.1 Área de estudo	21
3.2 Amostragem	21
3.3 Coleta de material para exame	22
3.4 Diagnóstico Laboratorial	22
3.4.1 Teste de 2-Mercaptoetanol (2-ME)	22
3.4.2 Antígeno Acidificado Tamponado (AAT)	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

A brucelose é uma doença bacteriana de distribuição cosmopolita, tendo ocorrência principal nos países em desenvolvimento. Também conhecida como doença de bang, aborto contagioso, aborto infeccioso, aborto enzoótico e "*Slinking of The Calf*", essa enfermidade tem como agente etiológico, bactérias do gênero *Brucella*, espécie *Brucella abortus*, sendo o biotipo um o mais comumente isolado. (PAULIN & FERREIRA NETO, 2003; GOMES, 2014).

A brucelose bovina na América Latina provoca perdas econômicas na ordem de 600 milhões de dólares/ano. No Brasil, esse número foi estimado em cerca de 100 milhões dólares/ano (FOLHA DE SÃO PAULO, 2000). Essas perdas podem ser relacionadas a dificuldade de combate a enfermidade através da identificação dos animais portadores pelos sinais clínicos. Essa dificuldade é justificada pelo curto período agudo em que há a manifestação dos sinais clínicos, e a longa fase crônica da enfermidade em há diminuição das taxas de abortamento aliado à disseminação da bactéria contaminando o ambiente (DAS et al. 1990; PAULIN & FERREIRA NETO, 2008).

Embora o bovino seja hospedeiro preferencial, outros animais podem ser acometidos pela brucelose, como búfalos, camelos, cervos, cães, equinos, ovinos, suínos e o homem (STACK; MacMILLAN, 2003). Em búfalos, a brucelose é referida como a principal causa de abortamentos e consequente esterilidade desses animais, ocasionada pelas lesões crônicas uterinas (MARQUES E CARDOSO, 1997).

O Brasil detém o maior rebanho bubalino da América do Sul, com maior concentração de animais na região norte do país. No Maranhão, a maior parte do efetivo localiza-se na Baixada Maranhense, onde é adotado um sistema de criação predominantemente extensivo (70%), com baixo padrão tecnológico (96%), apresentando rebanhos composto na maioria por fêmeas adultas (50%). Em termos de produção, os produtores dessa localidade consideram os bubalinos superiores aos bovinos criados sob as mesmas condições. Nessa região, a manutenção dos rebanhos, é voltada em primeiro plano para a geração de renda a partir da venda para o abate, acompanhada pela comercialização de bezerros e leite para complemento da renda (DOS SANTOS et al. 2016).

Somente nos anos de 2010 e 2011 foram abatidos cerca de 7.531 bubalinos no Maranhão (SEMAPA, 2012). Deste quantitativo e dos demais que abrangem os anos anteriores e seguintes até 2015, são ausentes os dados referentes que atestam a sanidade desses animais na linha de abate, em relação a brucelose. Um trabalho realizado em uma

propriedade, localizada no município de Santa Rita, por Chaves et al. (2012), relata o acometimento de 5,18% (10/232) dos animais. Santos et al., em um trabalho com bovinos na linha de abate no ano de 2007, encontraram um total de 5,97% (25/419) de animais reagentes, além de uma taxa de 10,16% (6/59) dos trabalhadores no frigorífico acometidos pela enfermidade.

Tendo em vista a importância da doença, tanto como zoonose quanto para a produção animal local, aliado a ausência de dados sobre a sanidade dessa espécie destinados ao abate no estado, este trabalho teve como objetivo principal, estabelecer a frequência da enfermidade em búfalos abatidos em frigoríficos sob inspeção municipal, com o intuito de compor um banco de informações a nível regional e local, importantes para os órgãos de vigilância no estado e nos municípios.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bubalinocultura

O búfalo (*Bubalus bubalis*) apresenta boa produtividade e facilidade de adaptação às condições geoclimáticas brasileiras, que aliado com seu rápido desenvolvimento ponderal, têm favorecido o incremento e o desenvolvimento da bubalinocultura em várias regiões do Brasil (PAULIN, 2008). Essa espécie é originária da Ásia, e atualmente encontra-se em rápida ascendência por todo mundo, justificada por sua excelente adaptação a pastagens grosseiras de campos e vargens, em conjunto com sua elevada capacidade de produzir alimentos em regiões com características consideradas insatisfatórias à produção de bovinos (MANO FILHO, 1987; RODRIGUES et al, 2008).

O rebanho bubalino brasileiro foi estimado em cerca de 1.365 milhões de cabeças no ano de 2015 (IBGE, 2015). No Maranhão, esse número é de 86.648 animais, distribuídos em 146 municípios dos 218 que compõem o Estado, 65% deste quantitativo estão concentrados na região da Baixada Maranhense (DOS SANTOS et al. 2016). Essa região foi a primeira a apresentar expansão na criação de búfalos no estado, onde começou a ser introduzido na década de 1950 a 1970 (SANTOS, 2004).

2.2 Histórico da brucelose

O primeiro isolado de espécie de bactérias pertencentes ao gênero *Brucella*, ocorreu em 1887, pelo oficial e médico Dr. David Bruce, em amostras (baço) colhidas na necropsia de militares que morreram vítimas dessa enfermidade nas costas do Mediterrâneo, chamada de Febre de Malta. O organismo foi inicialmente denominado *Micrococcus melitensis* e posteriormente de *Brucella melitensis*. Anos mais tarde, em 1897, um veterinário dinamarquês chamado Bernard Bang, realizou o primeiro isolado da bactéria em um feto bovino abortado, sendo denominado inicialmente de *Bacillus abortus* e, mais tarde, conhecida como *Brucella abortus* (GOMES, 2014).

2.3 Brucelose no Brasil

No país, a doença foi relatada pela primeira vez por Gonçalves Carneiro em 1913, sendo um caso de brucelose no homem. Já a brucelose bovina foi diagnosticada clinicamente no ano seguinte, por Danton Seixas no Rio Grande do Sul. Três anos depois, Thomaz Pompeu Sobrinho observou casos raros de abortamento bovino no Ceará, sendo mais comum em equinos e frequente em ovinos, sem verificar um padrão de ocorrência epidêmica (PAULIN

& FERREIRA NETO, 2003). Desde então, vários inquéritos epidemiológicos revelaram a presença da enfermidade em animais domésticos por todo o país (POESTER et al., 2002).

2.4 Brucelose em Búfalos

A brucelose provoca grandes prejuízos econômicos para a bubalinocultura devido a problemas reprodutivos acarretados pela doença, sendo a principal causa de abortamento em rebanhos bubalinos em diferentes países inclusive o Brasil (TIMONEY et al., 1988; MARQUES E CARDOSO, 1997; PAULIN & FERREIRA NETO, 2008).

O primeiro relato da enfermidade acometendo essa espécie no país, foi realizado por Santa Rosa et al. (1969), que encontraram 40,9% (27/66) de animais positivos ao teste de soroaglutinação rápida em placa, e o isolamento da bactéria no país ocorreu no mesmo ano, realizado por Ogassawara et al. (1969). Investigações sorológicas de Costa et al. em 1973, no Estado de Goiás, já revelavam a enfermidade acometendo bubalinos no país, nos anos seguintes, mais inquéritos sorológicos foram realizados. Sandoval et al. em 1979, examinaram 992 soros provenientes de rebanhos bubalinos em São Paulo, e encontraram a prevalência de 4,33% e 5,69% para brucelose; Mathias et al. (1998) na Região do Vale do Ribeira, no mesmo estado, estimaram a prevalência de brucelose em búfalas em 10,39%. No estado do Pará, Molnár et al. (2002) e Lopes et al. (1999) encontraram uma frequência de 17,52% e 3,44% em bubalinos respectivamente.

2.5 Agente Etiológico

A *Brucella abortus* é um micro-organismo intracelular facultativo, podendo sobreviver e multiplicar-se em macrófagos e células epiteliais. Esse agente apresenta resistência natural à morte intraleucocitária, relacionada em parte, à falha do organismo em estimular um nível efetivo de desgranulação após a sua entrada no organismo, esse efeito é mais comumente observado em variantes de *Brucella* lisa. O agente prolifera-se maciçamente em células com altos níveis de eritritol, como as encontradas no trato genital de machos e fêmeas prenhe. Nessas a placentite e endometrite são comuns, com ulceração da camada de revestimento do útero, devido a penetração da bactéria nas células epiteliais do córion (GOMES, 2014).

As bactérias do gênero *Brucella* são Gram-negativas imóveis, aeróbias, não formadoras de esporos e de formato de bacilos curtos (MATHIAS & COSTA, 2007). Nove espécies fazem parte deste gênero (Foster et al., 2007; Scholz et al., 2008). A *B. melitensis*, *B.*

suis e *B. abortus* são espécies lisas e altamente patogênicas, responsáveis por doenças graves, acometendo caprinos e ovinos, suínos e bovinos, respectivamente, assim como no homem (Corbel et al., 2006). A *B. canis* e a *B. ovis*, são as únicas espécies naturalmente rugosas, onde a *B. canis* ocasiona brucelose canina e é considerada a menos patogênica para o homem, e a *B. ovis* que só foi encontrada infectando naturalmente ovinos (Corbel, 1997). As espécies *B. neotomae* e *B. microti*, não são consideradas zoonóticas e foram encontradas em roedores silvestres (Corbel, 1997; Scholz et al., 2008). A *B. cetie* e a *B. pinnipedialis*, são patogênicas para mamíferos marinhos (FOSTER et al., 2007).

2.6 Resistência

A *B. abortus* não possui capacidade de multiplicação fora do hospedeiro, apenas persiste no ambiente, tendo sua sobrevivência determinada principalmente pelas condições ambientais em que está submetida. Em temperatura ambiente sua sobrevivência é de aproximadamente cinco dias; 30-37 dias quando secas lentamente no solo; 75 dias no feto abortado em clima temperado. Na temperatura de 45–50 °C a sobrevivência da *B. abortus* é de quatro horas, enquanto que na temperatura de 15°C é de aproximadamente oito meses. A inativação pode ser realizada pela pasteurização entre 10 e 15 segundos; e a destruição rápida por desinfetantes comuns como o cresol 3%; hidróxido de sódio a 2%; compostos de ortofenóis 3-5%; mercuriais e álcool 70% (BRASIL, 2006).

2.7 Aspectos epidemiológicos

Segundo Paulin (2008), quando a contaminação por *Brucella abortus* ocorre em uma população suscetível, em um primeiro contato a maioria das fêmeas aborta, sendo característico a ocorrência no terço final da gestação. Na prenhez subsequente, há a reinvasão do útero, mas a proporção de abortamentos decresce em 20 a 25%, e dificilmente ocorre na terceira prenhez. Após a fase aguda, sobrevém a crônica, caracterizada pelo abortamento apenas dos animais suscetíveis recém introduzidos no rebanho ou novilhas de primeira cria. A infecção da bezerra (terneira) pode ocorrer no útero da mãe ou pela ingestão de leite contaminado. Animais expostos podem desenvolver infecções latentes que não são detectáveis, através de testes sorológicos, com frequência estimada em 2 a 3 % dos animais expostos. Os animais com infecção latente podem permitir a transmissão da infecção ao produto e disseminar a brucelose em uma propriedade classificada como indene. Os casos de

epididimites e orquites são relativamente comuns, podendo assim, transmitir a brucelose, por meio do sêmen contaminado (GOMES, 2014).

2.8 Transmissão

A transmissão de *B. abortus* entre animais ocorre, normalmente, por contato direto com fômites de animais infectados. Em animais de produção, a contaminação pode ocorrer também por ingestão alimentos contendo o agente, como pastagem e leite. Outros meios de transmissão são o contato por meio de feridas ou abrasões. A transmissão sexual não é um meio muito relevante em bovinos, mas deve ter-se em conta que a doença pode ser transmitida por inseminação artificial e, portanto, só devem ser usados para coleta de esperma em touros com status sanitário conhecido (CUNHA, 2016).

Em humanos, a infecção pelo gênero *Brucella* pode ocorrer pelo contato direto com materiais contaminados, secreções de animais domésticos, fetos, placentas, secundinas, sangue e carcaças de animais infectados, bem como pelo consumo de produtos e subprodutos de origem animal (RADOSTITS, 2007). A ingestão de leite “in natura” ou sob a forma de derivados, sem pasteurização prévia que pode veicular o micro-organismo e contaminar o consumidor (USDA, 2009). Estudos de Botelho et al. (1990), comprovaram a elevada ocorrência da infecção em humanos pela ingestão de leite de vaca e subprodutos “in natura”. A presença de DNA do gênero *Brucella* em derivados de leite bovino comercializados de forma clandestina foi elencada por Miyashiro (2004). Nesse estudo, o micro-organismo foi identificado em 29 (20,57%) dentre 141 queijos tipo minas frescal e 8 (15,69%) dentre 51 queijos minas meia cura. O leite da espécie bubalina, apresenta características físico-químicas peculiares, como maiores teores de proteína, gordura e caseína, que propiciam a produção de derivados nobres como os queijos mozzarella, provolone e ricota (ANDRIGHETTO, 2004). Porém, esses derivados podem ser elaborados sem prévia pasteurização o que representa risco de contágio pelos humanos mediante o consumo desses produtos (USDA, 2009).

2.9 Zoonose

A brucelose é uma zoonose de caráter crônico com alta morbidade e baixa mortalidade, sendo relevante para a saúde pública mundial, relacionada a esfera ocupacional, acometendo principalmente empregados de frigoríficos, granjas leiteiras e veterinários. Um estudo com trabalhadores de frigorífico, realizado por Santos et al. (2007) em São Luís, Maranhão, encontraram a frequência de 10,17% (6/59) de humanos positivos. Por ano, são

notificados cerca de 500.000 novos casos humanos de infecção, e apesar do número significativo de casos descobertos, esta enfermidade ainda é subdiagnosticada com a estimativa de que pelo menos 25 casos não são reconhecidos para cada caso comprovado (VASCONCELOS, 2003).

A espécie considerada mais patogênica para humanos é a *B. melitensis*, seguida pela *B. suis*, a *B. abortus* e a *B. canis*. Porém, a maioria das infecções são causada pela *B. abortus*, visto que é a espécie mais difundida em animais de produção (ACHA E SZYFRES, 2003). O quadro da enfermidade em humanos, se manifesta através de febre intermitente, cefaléia, dor muscular e nas articulações. As manifestações clínicas por *B. abortus* são mais brandas que as observadas nas infecções por *B. melitensis* ou *B. suis* (ACHA E SZYFRES, 2003; PAULIN, 2009). No Brasil, são poucas as descrições do isolamento desse micro-organismo em humanos, embora os registros disponíveis em investigações sorológicas sugiram altos níveis de exposição para os grupos de risco ou de vulnerabilidade, relacionados principalmente à ocupação profissional (HOMEM, et al. 2000).

2.10 Diagnóstico

O diagnóstico da brucelose pode ser realizado pela identificação do agente com métodos diretos ou ainda pela detecção de anticorpos contra *B. abortus* pelos métodos indiretos. Os métodos diretos incluem o isolamento e a identificação do agente, imunohistoquímica, e métodos de detecção de ácidos nucleicos, principalmente a reação da polimerase em cadeia (PCR) (BRASIL, 2006).

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), que apresenta as diretrizes de controle e erradicação para a enfermidade no Brasil, definiu como provas oficiais, os testes de Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e Anel em Leite (TAL) como sendo as provas de triagem e 2-Mercaptoetanol (2-ME) e Fixação de Complemento (FC) como os testes confirmatórios. Os antígenos para esses testes são preparados com células inteiras da cepa de *B. abortus* 1119-3 (BRASIL, 2006).

O teste do AAT é preparado com o antígeno na concentração a 8%, tamponado em pH ácido (3,65) e corado com o Rosa de Bengala. É o teste de triagem do rebanho, definido por apresentar alta sensibilidade, no qual irá reagir a maioria dos soros de animais bacteriologicamente positivos. O pH acidificado da mistura soro-antígeno inibe a aglutinação do antígeno pelas IgM, detectando com maior precocidade as infecções recentes, sendo, nesse aspecto, superior à prova lenta em tubos (BRASIL, 2006). Podem ocorrer casos de reações

falso-positivas em decorrência da utilização da vacina B19 depois da idade recomendada que é de três a oito meses de idade para bezerras, e a presença de anticorpos inespecíficos que estão presentes em infecções por outras bactérias, como *Salmonella sp*, *Escherichia coli* O:157, *Pseudomona ssp.*, ou *Yersinia enterocolitica*. Em virtude disso, sugere-se a confirmação por meio de testes de maior especificidade a fim de se evitar o descarte de animais não infectados (BRASIL, 2006; GUIMARÃES, 2011).

A prova do 2 – Mercaptoetanol é descrita como uma prova quantitativa seletiva, detectando a presença de IgG no soro, que é a imunoglobulina indicativa de infecção crônica. É uma prova executada sempre em paralelo com a prova lenta em tubos. A técnica é baseada na degradação dos anticorpos pela ação de compostos que contenham radicais tiol da classe IgM, em subunidades que não provocam aglutinação. Os resultados positivos na prova lenta e negativos no 2-ME devem ser interpretados como reações inespecíficas ou originados de anticorpos residuais de vacinação com B19. Resultados positivos em ambas as provas indicam a presença de IgG, que são as aglutininas relacionadas com infecção, devendo os animais serem considerados infectados (BRASIL, 2006).

O teste de Soroaglutinação Lenta em Tubos (SAL), também chamada de prova lenta – pelo fato da leitura ser feita em 48 horas - é a técnica sorológica mais antiga, e é atualmente utilizada em associação com o teste do 2-Mercaptoetanol para confirmar resultados positivos em provas de rotina. Essa prova permite a identificação de uma elevada proporção de animais infectados, mas, costuma apresentar resultados falso-negativos, um exemplo é o caso de infecção crônica e, em algumas situações surgir títulos significativos em virtude de reações cruzadas com outras bactérias. Alguns animais vacinados com B19 após 24 meses (idade limite estipulada), pode apresentar títulos de anticorpos para essa prova por um longo período, ou permanentemente. Em virtude desse fato, destaca-se a relevância da correta idade de vacinação das bezerras, que é no intervalo de três a oito meses de idade, para que não ocorra a interferência da reação vacinal no diagnóstico e o produtor não perca um animal por uma reação falso-positiva (BRASIL, 2006; GUIMARÃES, 2011).

A interpretação dos testes sorológicos, devem ser baseados na dinâmica da resposta dos animais frente à infecção por *Brucella sp*. Essa resposta é influenciada por muitos fatores, como o período de incubação que é longo e variável, a condição vacinal dos animais, a variação individual de resposta à vacinação e à infecção. Ainda se considera também o estágio da gestação no momento da infecção (BRASIL, 2006).

2.11 Perdas econômicas

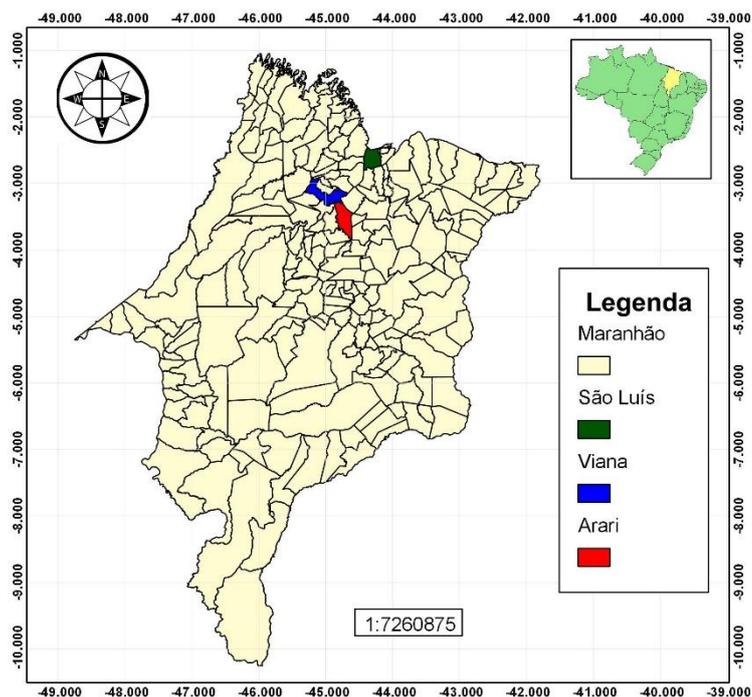
As perdas econômicas ocasionadas pela brucelose bovina na América Latina, são na ordem de 600 milhões de dólares/ano. No Brasil, esse número foi estimado em cerca de 100 milhões dólares/ano (FOLHA DE SÃO PAULO, 2000). Essa doença também, é um dos principais motivos para restrições comerciais no mercado internacional, levando os países a intensificarem as medidas de combate com a implantação de programas para o controle e posterior erradicação da doença (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

Alguns países conseguiram quantificar as perdas diretas provocada pela enfermidade, e os dados revelam uma queda de 10 a 15% na produção de carne, aumento no intervalo entre partos de 11,5 para 20 meses, aumento de 30% na taxa de reposição dos animais, diminuição de 15% no nascimento de bezerros e queda de 10 a 24% na produção leiteira (GUIMARÃES, 2011). Há perdas difíceis de se quantificar, principalmente no que diz respeito ao custo do tratamento humano e também ao período que o humano infectado fica afastado do trabalho devido à infecção (PAULIN & FERREIRA NETO, 2003; VALENTE, et al. 2011).

3 METODOLOGIA

3.1 Área de Estudo

O Maranhão apresenta um quantitativo de 80.672 cabeças de búfalo (IBGE, 2014), cujo rebanhos estão situados principalmente na região da Baixada Maranhense. Os animais provenientes desses rebanhos são abatidos em frigoríficos de bovinos. O presente trabalho foi realizado nos frigoríficos de Viana, Arari e São Luís, por apresentarem abate mais frequente dessa espécie para o consumo humano no Estado do Maranhão (Figura 1).



Fonte: ALVES, J. S., 2016.

Figura 1. Mapa do Estado do Maranhão representando os municípios incluídos na pesquisa.

3.2 Amostragem

As amostras foram definidas por conveniência, em razão da disponibilidade de animais durante o abate. A informação de cada amostra foi obtida pelos registros contidos na Guia de Transporte Animal (GTA), fornecidas pelo responsável técnico (RT) do frigorífico. Os animais tinham idade ≥ 36 meses, sendo 86 fêmeas e 69 machos todos mestiços da raça murrh totalizando 155 amostras (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição das 155 amostras coletadas em frigoríficos sob SIM (Sistema Inspeção Municipal) dos municípios de São Luís, Arari e Viana, Maranhão, Brasil, 2016

<i>Frigoríficos</i>	Amostras		
	<i>Fêmeas</i>	<i>Machos</i>	<i>Total</i>
<i>São Luis</i>	10	9	19
<i>Arari</i>	34	27	61
<i>Viana</i>	42	33	75
<i>TOTAL</i>	86	69	155

3.3 Coleta de material para exame

Foram coletadas 155 amostras sanguíneas durante a sangria na linha de abate, logo após o seccionamento da veia jugular. Para esta coleta, foi utilizado tubos de 10 ml com gel, devidamente esterilizados e identificados. Essas amostras foram mantidas em temperatura ambiente com ângulo de 45° até ocorrer a formação e retração de coágulo, sendo posteriormente armazenadas sob refrigeração e encaminhadas ao Laboratório de Diagnóstico de Doenças Infecciosas (LDDI) no curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA. Em seguida, foram submetidas a centrifugação, à 2.500 rotações por minuto, durante 15 minutos para obtenção do soro. O soro foi aliquotado em duplicatas, identificado e armazenado em tubos plástico do tipo polipropileno com capacidade de 2,0 ml e mantidos sob congelamento a -20°C até a realização dos exames.

Esse trabalho obteve aprovação da Comissão de Ética e Experimentação Animal - CEEA do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, conforme protocolo nº 21/2014, para a execução da pesquisa.

3.3 Diagnóstico Laboratorial

3.3.1 Antígeno Acidificado Tamponado (AAT)

A prova foi realizada conforme protocolo estabelecido por Alton et al. (1976), preconizado pelo PNCEBT no Brasil. A técnica foi executada no LDDI da UEMA, *Campus* de São Luís - MA.

3.3.2 Teste de 2-Mercaptoetanol (2-ME)

O teste do 2-Mercaptoetanol foi realizado conforme a metodologia descrita por Garcia-Carrilo (1982), empregando-se o antígeno preparado com *Brucella abortus*, produzido pelo Tecpar. Para a interpretação dos resultados, foi considerado como ponto de corte o título 25, adotado pelo PNCEBT (BRASIL, 2006). A técnica foi executada no LDDI da UEMA, *Campus* de São Luís - MA.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 155 amostras de búfalos (*Bubalus bubalis*) submetidas ao teste do AAT (Figura 2), 9,67% (15/155) apresentaram reação de aglutinação, sendo posteriormente submetidas ao teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME), para confirmação.

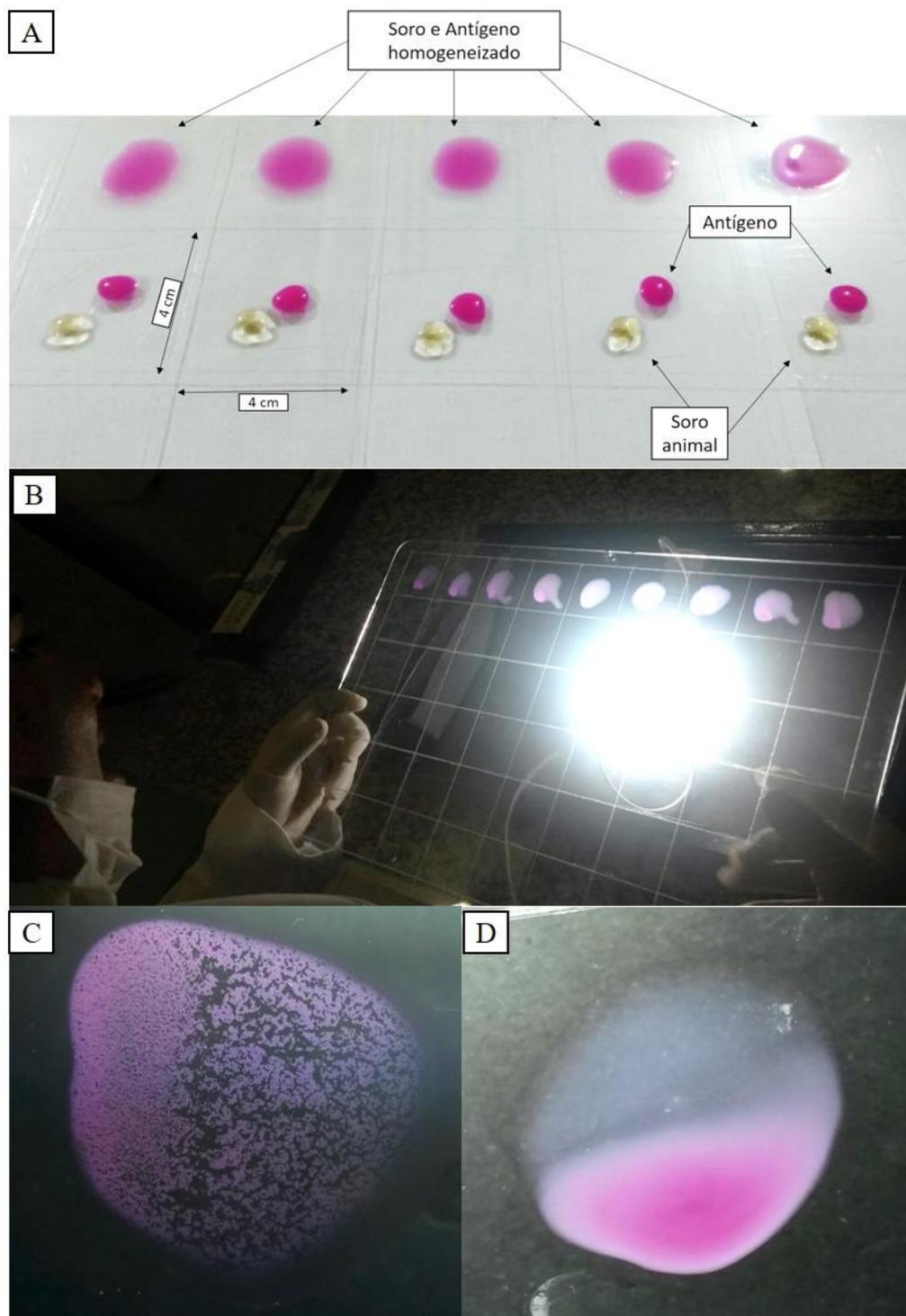


Figura 2. A) Execução da técnica do AAT. B) Leitura em câmara escura. C) Reação positiva – Formação de grumos. D) Reação Negativa – Translúcida.

Fonte: BESERRA, P. A., 2016.

No teste de 2-Mercaptoetanol, 5,16% (8/155) dos animais foram reagentes para *Brucella abortus* (Figura 3).

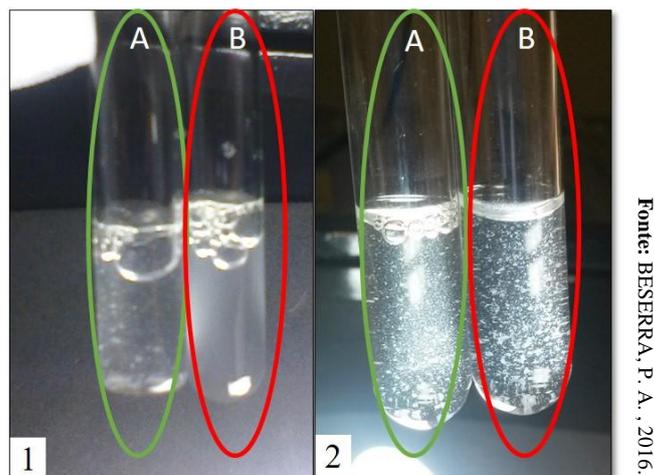


Figura 3. Em “1” amostra não reagente - Tubo “A” contendo o teste de SAL com formação de grumos, mas em “B”, a prova do 2-ME apresenta aspectos translúcido. Em “2” a combinação considerada reagente, onde observa-se em ambas as provas (A e B) a formação de grumos.

Deste quantitativo 5,26% (1/19) eram provenientes do frigorífico de São Luís, 6,55% (4/61) de Arari, e 4,00% (3/75) de Viana (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição da frequência de bubalinos submetidos aos testes de AAT e 2-ME, provenientes dos frigoríficos sob SIM (Sistema de Inspeção Municipal) dos municípios de São Luís, Arari e Viana, Maranhão, Brasil, 2016

<i>Frigoríficos</i>	<i>AAT</i>			<i>2 – ME</i>		
	<i>N</i>	<i>R</i>	<i>%</i>	<i>N</i>	<i>R</i>	<i>%</i>
<i>São Luis</i>	19	2	10,52	2	1	5,26
<i>Arari</i>	61	8	13,11	8	4	6,55
<i>Viana</i>	75	5	6,66	5	3	4,00
<i>TOTAL</i>	155	15	9,6	15	8	5,16

Os animais reagentes, apresentaram títulos de anticorpos variando entre 1:25 a 1:100 (Tabela 3).

Tabela 3. Titulação dos animais reagentes provenientes dos frigoríficos sob SIM (Sistema de Inspeção Municipal) dos municípios de São Luís, Arari e Viana, Maranhão, Brasil (2016) submetidos ao teste do 2 – Mercaptoetanol

<i>Frigoríficos</i>	<i>2 – Mercaptoetanol</i>			
	<i>1:25</i>	<i>1:50</i>	<i>1:100</i>	<i>1:200</i>
<i>São Luis</i>	1	-	-	-
<i>Arari</i>	2	1	1	-
<i>Viana</i>	2	1	-	-
<i>TOTAL</i>	5	2	1	-

A frequência encontrada de 5,16% (8/155), corrobora com o achado de Chaves et al. em 2012, que obteve 5,18% (12/232), trabalhando com animais originários da mesma região do presente estudo. Este resultado encontra-se acima da média nacional que está entre 4,0% e 5,0%.

Os dados contidos nas Guias de trânsito Animal, apresentaram o município de Viana como ponto de origem de todos os animais abordados nesse estudo. O município em questão está localizado na Baixada Maranhense, que apesar de apresentar o maior efetivo da espécie no estado e ter sido a pioneira na criação desses animais, 70% dos criadores não são proprietários das terras que ocupam, realizando o pastejo comunitário e a prática do sistema extensivo de criação (DOS SANTOS et al. 2016). Estes fatores são relacionados por Gomes (2014), como predisponentes para a transmissão de doenças infecciosas entre rebanhos, como a brucelose.

Os hábitos desses animais, como o banho visando à termorregulação corpórea e a migração ou invasão de áreas em busca de alimentos, já os predispoem ao contato e disseminação da *B. abortus* (ACHA E SZYFRES, 2003). Além disso, os ecossistemas de campos inundáveis e manguezais, que são marcantes na Baixada Maranhense (BERNADI, 2005), foram relacionados por Acha e Szyfres (2003), como contribuintes para o aumento da permanência da *B. abortus* viável. Fator que intensifica a contaminação ambiental, elevando as chances de infecção, principalmente por meio da ingestão de alimentos e água.

O abortamento em fêmeas bubalinas devido a infecção por *B. abortus*, pode levar a esterilidade permanente devido às lesões crônicas no útero (GENTILE, 1957). Em machos a infecção se concentra nas glândulas acessórias e testículos, manifestando-se principalmente

por vesiculite e, secundariamente, por quadros de orquite e epididimite, levando a sub e/ou infertilidade (NICOLETTI, 1986; HAFEZ, 1995; RADOSTITS et al., 2007).

Segundo Barbosa et al. (2005), o mérito reprodutivo é cinco vezes mais rentável para o produtor do que o desempenho no crescimento (BARBOSA et al., 2005). O animal fora dessa característica é conduzido ao descarte, que muitas vezes ocorre pela venda dos animais para o abate (SERENO; PELLEGRIN, 1993). Na região da Baixada Maranhense, foi constatado por dos Santos et al. (2016), que o comércio desses animais é realizado para marchantes e matadouros locais, que não atendem os requisitos mínimos da legislação sanitária. Nesse estudo, comprovou-se o relato acima descrito, uma vez que foram encontrados animais reagentes para *B. abortus*, que podem ter sido oriundos de descarte dos rebanhos, e foram abatidos como animais sadios. Este fato alerta não só da adoção dos requisitos sanitários nesses locais, mas também para a necessidade da educação sanitária de proprietários e demais membros envolvidos nesta cadeia produtiva expostos a essa zoonose.

Além de comprometer a produção de leite em 10 a 25%, a presença de *B. abortus* é uma das principais formas de contaminação humana, tanto pelo seu consumo “in natura”, como a produção de derivados sem pasteurização, como é o caso do queijo mussarela (BOTELHO et al. 1990; DE LUCENA LIRA et al. 2009). Nessa região, é comum a comercialização de leite e do queijo mussarela para complementar a renda familiar, representando um risco quando se verifica a presença de animais positivos provenientes da mesma região.

Segundo dos Santos et al. (2016), os rebanhos da Baixada maranhense são compostos na maior parte por fêmeas (50%). Em termos de transmissão vertical, uma fêmea infectada pode conceber um animal aparentemente sadio, portador latente da infecção, fenômeno relatado em 1 a 9% das novilhas nascidas de animais positivos. Esses animais apresentam-se sorologicamente negativos ou com títulos oscilantes, dificultando o combate a enfermidade, que é feito primariamente pela identificação dos animais reagentes, através de testes sorológicos (NIELSEN E DUNCAN, 1900).

Um percentual de 20,00% (3/15) das amostras reagentes ao AAT, não persistiram aglutinando no teste de 2-ME, ou seja, não apresentaram anticorpos IgG e IgM *anti-Brucella abortus*. Nesse caso, a reação positiva no AAT, pode ter ocorrido em função da presença de anticorpos oriundos de infecções por outras bactérias, como *Salmonella sp.*, *Escherichia coli O:157*, *Pseudomona ssp.*, ou *Yersinia enterocolitica* (BRASIL, 2006).

Nesse estudo, 26,66% (4/15) dos soros positivos ao AAT que foram levados ao teste do 2-ME, apresentaram-se reagentes apenas na prova de SAL. Esse resultado pode ser justificado pela persistência de anticorpos residuais, no caso IgM, oriundos de vacinação por B19 fora do período estipulado, que é de três a oito meses de idade para bezerras (BRASIL, 2006). Segundo Nicoletti et al. (1978), na maioria dos casos, o título vacinal em animais vacinados até os oito meses de idade desaparece em até um ano pós-vacinação, mas animais em que a puberdade é precoce, esse título pode não desaparecer tão cedo ou persistir por muito tempo, interferindo no diagnóstico sorológico, prejudicando a implantação de programas de controle e erradicação, como é o caso do PNCEBT no Brasil. Outro fato relevante, é que animais no início da infecção, apresentam imunoglobulina em sua maioria da classe IgM, podendo apresentar-se positivo apenas no SAL, devido à taxa de IgG circulante insuficiente para reagir no teste do 2 - ME (BRASIL, 2006).

CONCLUSÃO

A infecção por *Brucella abortus* encontra-se presente nos bubalinos que abastecem os matadouros sob inspeção municipal das cidades de São Luís, Arari e Viana, com frequência acima da média nacional. Todos os animais positivos eram pertencentes ao município de Viana, Maranhão.

REFERÊNCIAS

ACHA PN, SZYFRES B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud; 2003.

ALTON, G.G.; MAW, J.; ROGERSON, B.A. et al. The serological diagnosis of bovine brucellosis: an evaluation of the complement fixation, serum agglutination and rose Bengal test. *Australian Veterinary Journal*, Australia, v.51, p.57-63, 1976.

ANDRIGHETTO C. Efeito da monensina sódica na produção, composição do leite e escore de condição corporal de búfalas Murrah no início da lactação [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2004.

BARBOSA, R.T.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M.A.C.M. A importância do exame andrológico em bovinos. *Circular Técnica*. São Carlos, SP, p.1-13, 2005.

BASTIANETTO, E., AMARAL, F. R., CARVALHO, L. B., OLIVEIRA, D. A. A., & LEITE, R. C. (2005). Brucelose em rebanhos de búfalos criados na região do Alto São Francisco, Minas Gerais. *Revista Brasileira de Reprodução Animal* 29(1), 55-56.

BERNARDI, C.C. Conflitos sócio-ambientais decorrentes da búfalinocultura em territórios pesqueiros artesanais: o caso Olinda Nova do Maranhão. 2005. 216p. Dissertação (Mestrado – Planejamento e Gestão Ambiental) – Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2005.

BOTELHO AP, MOTA RA, SILVA LBG, SANTOS FILHO AS, COELHO RMS, LIMA ET. Recuperação de *Brucella abortus* do leite ‘in natura’ procedente de vacas soropositivas dos municípios de Pedra e Venturosa-PE: aspectos de saúde pública. *Higiene Alimentar* 1990;14:72-7.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) / organizadores, Vera Cecília Ferreira de Figueiredo, José Ricardo Lôbo, Vitor Salvador Picão Gonçalves. - Brasília : MAPA/SDA/DSA, 2006.

CHAVES, N. P., BEZERRA, D. C., SANTOS, L. S. D., SÁ, J. S., SANTOS, H. P., & PEREIRA, H. D. M. (2012). Intercorrência entre leucose enzoótica e brucelose em búfalos

(*Bubalus bubalis*) em sistema de produção extensivo. Pesquisa Veterinária Brasileira 32(2), 131-134.

CORBEL, M.J. Brucellosis: An overview. Emerging Infectious Disease Journal., v.3, p.213-221, 1997.

CORBEL, M.J.; ELBERG S.S.; COSIVI, O. Brucellosis in human and animals. Geneva: WHO Press, 2006. 89p.

COSTA E. O.; CURY R.; ROCHA U.F. Sobre a ocorrência da brucelose em búfalos *Bubalus bubalis* (Linnaeus 1758) no Estado de Goiás. Inquérito Sorológico. Biológico, v.39, p.162-164, 1973.

CUNHA, L. M. M. Estudo retrospectivo sobre a brucelose dos pequenos ruminantes na área de intervenção da OPP Monção Melgaço. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, 2016. Disponível em: <<http://repositorio.utad.pt/bitstream/10348/5593/1/msc_Immcunha.pdf>> Acesso em: 02 de Novembro de 2016.

DAS, L.V.M.; PARANJAPE, V.L.; CORBEL, M.J. Investigation of brucellosis-associated abortion in dairy buffaloes and cows in Bombay. The Indian Journal of Animal Sciences, v.60, n.10, p.1193-1194, 1990.

DE LUCENA LIRA, Hércules et al. Microfiltração do soro de leite de búfala utilizando membranas cerâmicas como alternativa ao processo de pasteurização. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 29, n. 1, p. 33-37, 2009.

DOS SANTOS, C. L. R., DOS SANTOS JÚNIOR, J. B., DA CUNHA, M. C., NUNES, S. R. F., BEZERRA, D. C., JÚNIOR, J. R. D. S. T., & CHAVES, N. P. Nível tecnológico e organizacional da cadeia produtiva da bubalinocultura de corte no estado do Maranhão. Arquivos do Instituto Biológico, 83, 1-8.

FOLHA DE SÃO PAULO. Jornal a folha de São Paulo. Disponível em <<<http://www1.folha.uol.com.br/fsp/ciencia/fe3009200201.htm>>>. Acesso em 02 de Novembro de 2016.

FOSTER, G.; OSTERMAN B.S.; GODFROID, J. et al. *Brucella ceti sp. nov.* and *Brucella pinnipedialis sp. nov.* for Brucella strains with cetaceans and seals as the irpreferred hosts. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v.57, p.2688-2693, 2007.

GENTILE, A. Sull a brucellosi del bufali. Veterinaria Italiana, v.18, p.591-596, 1957.

GOMES, M. J. P., *Gênero Brucella spp.* (2014) Disponível em: www.ufrgs.br/, Acessado em: 03 de Outubro de 2016.

GUIMARÃES, G. O. Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT): evolução no controle da brucelose bovina de 2001 a 2010. 2012. Disponível em: <<<http://bdm.unb.br/handle/10483/3051>>> Acesso em: 03 de Novembro de 2016.

HAFEZ, E.S.E. Reprodução animal. São Paulo: Manole Ltda. p.3-20, 1995.

HOMEM VSF, HEINEMANN MB, MORAES ZM, VEIGA JB, LÁU HD, TOURRAND JF, et al. Some zoonosis in the Eastern Amazon. Case of Uruará, Brazil. In: Proceedings of the 10th International Congress on Animal Hygiene; 2000, Netherlands. Netherlands: ISAH; 2000. p.204-10.

IBGE, 2015. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – Censo Agropecuário. Disponível em: <<<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2>>> Acesso em: 03 de Novembro de 2016.

LOPES, C. F. A., MOLNÁR, L., & MOLNÁR, E. (1999). Avaliação soroepidemiológica da brucelose em animais e humanos procedentes da zona bragantina no estado do Pará-Brasil. Revista Brasileira de Reprodução Animal, 23, 429-431.

MANO FILHO, A. C. Búfalos no Brasil e sua contribuição à sociedade. Revista dos Criadores, São Paulo, v. 12, p. 21-23, 1987.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 19, De 10 de Outubro de 2016 - Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal – PNCEBT. Acesso em: 01 de Janeiro de 2017.

Disponível

em:

<<http://www.lex.com.br/legis_27212693_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_19_DE_10_DE_OUTUBRO_DE_2016.aspx>>

MARQUES, J. R. F.; CARDOSO, L. S. A bubalinocultura no Brasil e no Mundo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE BUBALININOCULTURA, 1., 1997, Cruz das Almas. Anais. Cruz das Almas: Escola de Agronomia da Universidade Federal da Bahia, 1997. p.10-221.

MATHIAS, L. A., CHAVES, L. F., GIRIO, R. J., & DEL FAVA, C. (1998). Avaliação de um teste imunoenzimático competitivo no diagnóstico sorológico da brucelose em búfalos (*Bubalus bubalis*). Pesquisa Veterinária Brasileira, 18(3/4), 111-114.

MATHIAS, L. A.; COSTA, M. Brucelose bovina e eqüina. In: RIET-CORREIA et al. Doenças de ruminantes e eqüídeos. Santa Maria: Pallotti, 2007.

MIYASHIRO S. Presença de DNA de *Brucella abortus* em subprodutos lácteos clandestinos: diferenciação da origem da cepa vacinal (B19) ou de campo pela reação da polimerase em cadeia (PCR) [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2004.

MOLNÁR, L., MOLNÁR, E., LIMA, E. S., & DIAS, H. L. (2002). Avaliação de seis testes sorológicos no diagnóstico da brucelose bubalina. Pesquisa Veterinária Brasileira 22(2), 41-44.

NICOLETTI, P. Brucellosis on bovine reproductive efficiency. In: MORROW, D.A. Current therapy in theriogenoly. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986. p.271-274.

NICOLETTI, P., JONES, L. M., & BERMAN, D. T. (1978). Adult vaccination with standard and reduced doses of *Brucella abortus* strain-19 vaccine in a dairy-herd infected with brucellosis. Journal of the American Veterinary Medical Association, 173(11), 1445-1449.

NIELSEN K, DUNCAN JR. Animal brucellosis. Boca Raton: CRC Press; 1990.

OGASSAWARA S., CURY R., D'APICE V.B., MENDES M.F.M. & ROCHA U.F. 1969. Higroma articular brucélico em búfalo, *Bubalus bubalis* (Linneu, 1758). Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 36:117-121.

PAULIN L.M. & FERREIRA NETO J.S. 2003. O Combate a brucelose bovina: situação brasileira. Funep, Jaboticabal. 154p.

PAULIN LMS. Estudo comparativo de diferentes técnicas sorológicas para diagnóstico de infecções por *Brucella abortus* em búfalos (*Bubalus bubalis*) [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2009.

PAULIN, L. M. S.; FERREIRA NETO, J. S. Brucelose em búfalos. Arquivos do Instituto Biológico, v. 75, p. 389-401, 2008.

PNCEBT, 2006. PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE E ERRADICAÇÃO DA BRUCELOSE E DA TUBERCULOSE ANIMAL. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/programa%20nacional%20sanidade%20brucelose/Manual%20do%20PNCEBT%20-%20Original.pdf>> Acessado em: 25 de Maio de 2016.

POESTER, F.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LOBO, J. R.; GONÇALVES, V. S. P.; LAGE, A. P.; ROXO, E.; MOTA, P. M. P. C.; MÜLLER, E. E.; FERREIRA NETO, J. S. Estudos de prevalência da brucelose bovina no âmbito do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose: Introdução. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 61, supl. 1, p.1-5, 2009.

POESTER, F.P.; GONÇALVES, V.S.P.; LAGE, A.P. Brucellosis in Brazil. Veterinary Microbiology., v.90, p.55-62, 2002.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. Veterinary medicine: a text book of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats. 10.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2007. 2156p.

ROCHA, W. V., GONÇALVES, V. S. P., COELHO, C. G. N. F. L., BRITO, W. M. E. D. D., DIAS, R. A., DELPHINO, M. K. D. V. C., ... & LÔBO, J. R. (2009). Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Goiás.

RODRIGUES, C. F. D. C., IAPICHINI, J. E. C. B., LISERRE, A. M., SOUZA, C. B., FACHINI, C., & REICHERT, R. H. Oportunidades e desafios da bubalinocultura familiar da região sudoeste paulista. Revista tecnologia & Inovação Agropecuária. v.1.p. 100 – 109, 2008.

SANDOVAL LA, ARRUDA, NM, TERUYA, JM, GIORGI, W., AMARAL, LBS, MAZANTI, MT. Pesquisas em bubalinos: prevalência da brucelose e leptospirose no Estado de São Paulo – Brasil. *Biológico*, 45 (11), p.209-212, 1979.

SANTA ROSA C.A., CASTRO A.F.P. & TROISE C. 1969. Títulos aglutinantes para “*Brucella*” em búfalos do Estado de São Paulo. *Arqs Inst. Biológico*, São Paulo, 28:35-39

SANTOS, H. P., TEIXEIRA, W. C., OLIVEIRA, M. M. M., Pereira, H. M., Oliveira, R. A., NEGREIROS, R. C., CASTRO, R. S. Brucelose bovina e humana diagnosticada em frigorífico municipal de São Luís - MA, Brasil. *Ciência Veterinária Trópic.*, Recife, v. 10, n. 2/3, p. 86-94, mai/dez., 2007.

SANTOS, O.M. Avaliação dos usos e ocupação das terras da Bacia Hidrográfica do Rio Pericumã – MA, utilizando como parâmetros os padrões recomendáveis para uma área de proteção ambiental. 2004.96 p. Dissertação (Mestrado – Sustentabilidade de Ecossistemas) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2004.

SCHOLZ, H.C.; HUBALEK, Z.; SEDLÁČEK, I. et al. *Brucella microti sp.nov.*, isolated from the common vole *Microtus arvalis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v.58, p.375-382, 2008.

SEMAPA. Secretaria Municipal de Agricultura, Pesca e Abastecimento. Volume de abate de bubalinos na Cidade de São Luís – MA. 2012.

SERENO, J., & PELLEGRIN, A. (1993). Validação de técnicas de manejo no Pantanal.

STACK, J. J., MacMILLAN, A. P. Identification and bio typing of *Brucella spp*. Brunet Publications. Disponível em: <<http://www.progress.box.co.il/brunet/>>. Acesso em: 31 de outubro de 2016.

TIMONEY, J.F.; GILLESPIE, J.H.; SCOTT, F.W.; BARLOUGH, J.E. (Ed.). Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. London: Comstock Publishing Associates, 1988. p.135-152.

United States Department of Agriculture. National Center for Animal Health Programs. Facts about brucellosis. New Jersey; 2009 [cited 2016 Jan 01]. Available from <<http://www.aphis.usda.gov>>.

VALENTE, L.; CARNEIRO M., VALE, S.M. L. R./ AND BRAGA, M. J. "Determinantes do uso de medidas sanitárias de controle da brucelose e tuberculose bovinas." Revista de Economia e Sociologia Rural 49.1 (2011): 215-231.

VASCONCELOS, C. G. C. Zoonoses ocupacionais: Inquérito soropidemiológico em estudantes de Medicina Veterinária e Análise de Risco para Leptospirose, Brucelose e Toxoplasmose. 2003, 105f. Tese (Doutorado em Doenças Tropicais)- Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

Beserra, Priscila Alencar

Ocorrência de brucelose (*Brucella abortus*) em búfalos (*Bubalus bubalis*) abatidos em frigoríficos sob inspeção municipal do Estado do Maranhão /Priscila Alencar Beserra. – São Luís, 2017.

36 f.

Monografia (Graduação) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, 2017.

Orientador: Prof.Dr. Hamilton Pereira Santos

1. *Brucella abortus* . 2. Búfalos. 3. Frigoríficos. 4. antígeno acidificado tamponado. 5. 2-mercaptoetanol.I. Título.