

Detecção de anticorpos anti-*brucella* sp. em búfalos (*Bubalus bubalis*) nos municípios de Rolim de Moura e Santa Luzia D'Oeste do Estado de Rondônia

Detection of anti-brucella sp. in buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the municipalities of Rolim de Moura and Santa Luzia D'Oeste in the State of Rondônia

Detección de anti-brucella sp. en búfalos (*Bubalus bubalis*) en los municipios de Rolim de Moura y Santa Luzia D'Oeste en el Estado de Rondônia

Recebido: 14/10/2021 | Revisado: 21/10/2021 | Aceito: 17/12/2021 | Publicado: 01/01/2022

Taísa Fernanda Conceição Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9484-0574>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: taisaferranda@hotmail.com

João Gustavo da Silva Garcia de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5899-2490>

Centro Universitário Aparício Carvalho, Brasil

E-mail: joaogarciadesouza27@gmail.com

Ennely Mendonça Gutzeit

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0566-1276>

Centro Universitário São Lucas, Brasil

E-mail: ennely@gmail.com

Thiago Vaz Lopes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3192-1908>

Centro Universitário Aparício Carvalho, Brasil

E-mail: Thiagovlopes@hotmail.com

Fernando Andrade Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9474-9404>

Universidade Federal do Paraná, Brasil

E-mail: femedvet@yahoo.com.br

Sandro de Vargas Schons

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9811-5356>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: sandroschons@unir.br

Igor Mansur Muniz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0863-6647>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: igor.mansur@unir.br

Resumo

A brucelose é uma das mais importantes zoonoses no mundo. Trata-se de uma enfermidade infecciosa causada por bactérias do gênero *Brucella* spp. que afeta principalmente o sistema reprodutivo do animal, causando queda nas taxas reprodutivas e aumento no índice de aborto, acarretando desta maneira prejuízos econômicos no setor pecuário. Neste sentido, este trabalho teve por objetivo detectar a presença de anticorpos anti-*Brucella* sp. em búfalos nos Municípios de Rolim de Moura e Santa Luzia D'Oeste, ambos no estado de Rondônia. Como a brucelose tem maior importância nas fêmeas dos rebanhos, foram coletadas amostras de sangue de 34 búfalas, com aptidão para carne e leite, todas da raça murrâh, idade maior que 24 meses, e examinadas com o teste do antígeno acidificado tamponado (AAT). Das 34 amostras, uma foi reativa ao teste, sendo sugestivo do animal ser reagente a *Brucella abortus*. Para confirmar os dados encontrados é ideal que seja realizado outro teste de diagnóstico confirmatório da doença. Uma característica encontrada somente na propriedade do animal reagente é que há presença de animais silvestres no local, sendo uma possível fonte de infecção aos animais, e mesmo a prevalência do estudo sendo considerada baixa, é importante enfatizar que a brucelose trata-se de uma doença zoonótica, sendo importante o descarte de animais positivos nos rebanhos, afim de minimizar possíveis infecções tanto aos demais animais como os humanos.

Palavras-chave: Brucelose; Bubalinocultura; Diagnóstico; Zoonoses.

Abstract

Brucellosis is one of the most important zoonoses in the world. It is an infectious disease caused by bacteria of the genus *Brucella* spp. which mainly affects the animal's reproductive system, causing a drop in reproductive rates and an increase in the rate of abortion, thus causing economic losses in the livestock sector. In this sense, this work aimed to detect the presence of anti-*Brucella* sp. in buffaloes in the municipalities of Rolim de Moura and Santa Luzia D'Oeste, both in the state of Rondônia. As brucellosis is more important in female herds, blood samples were collected from 34 buffaloes, suitable for meat and milk, all of the Murrah breed, aged over 24 months, and examined with the buffered acidified antigen test (AAT). Of the 34 samples, one was reactive to the test, suggesting that the animal was reactive to *Brucella abortus*. To confirm the data found, it is ideal that another diagnostic test confirming the disease is performed. A characteristic found only in the property of the reagent animal is the presence of wild animals at the site, which is a possible source of infection to the animals, and even though the prevalence of the study is considered low, it is important to emphasize that brucellosis is a disease zoonotic, it is important to discard positive animals in herds, in order to minimize possible infections both to other animals and humans.

Keywords: Brucellosis; Buffalo farming; Diagnosis; Zoonoses.

Resumen

La brucelosis es una de las zoonosis más importantes del mundo. Es una enfermedad infecciosa causada por bacterias del género *Brucella* spp. lo que afecta principalmente al sistema reproductivo del animal, provocando una caída en las tasas de reproducción y un aumento en la tasa de abortos, provocando pérdidas económicas en el sector ganadero. En este sentido, este trabajo tuvo como objetivo detectar la presencia de anti-*Brucella* sp. en búfalos en los municipios de Rolim de Moura y Santa Luzia D'Oeste, ambos en el estado de Rondônia. Dado que la brucelosis es más importante en los rebaños de hembras, se tomaron muestras de sangre de 34 búfalos, aptos para carne y leche, todos de la raza murrah, de más de 24 meses, y examinados con la prueba del antígeno acidificado tamponado (AAT). De las 34 muestras, una fue reactiva a la prueba, lo que sugiere que el animal fue reactivo a *Brucella abortus*. Para confirmar los datos encontrados, lo ideal es que se realice otra prueba diagnóstica que confirme la enfermedad. Una característica que se encuentra únicamente en la propiedad del animal reactivo es la presencia de animales salvajes en el sitio, lo cual es una posible fuente de infección para los animales, y aunque la prevalencia del estudio se considera baja, es importante enfatizar que la brucelosis es una enfermedad zoonótica, es importante descartar los animales positivos en los rebaños, con el fin de minimizar las posibles infecciones tanto a otros animales como a los humanos.

Palabras clave: Brucelosis; Cría de búfalos; Diagnóstico; Zoonosis.

1. Introdução

O búfalo é uma espécie de animal alternativa à produção de proteína de origem animal, seja ela carne, leite e seus derivados (Nardi Júnior et al. 2007). A mensuração da população de búfalos no mundo é algo difícil de definir, pois esses animais normalmente são incluídos juntamente com a bovinocultura e a informações obtidas pelos órgãos fiscais muitas das vezes são inferiores ao existente, além de que mais de 95% desse rebanho encontram-se em países asiáticos em processo de desenvolvimento e superpopuloso, não conseguindo ter um melhor controle (Gonçalves, 2008). Estima-se que existem cerca de 200 milhões de cabeças no mundo, concentrando em torno de 96,92% na Ásia (FAO, 2017).

No Brasil o rebanho bubalino tem aproximadamente 1.351.631 milhões de cabeças. Concentrando-se a maior parte na região Norte do país, reunindo cerca de 66% do efetivo, e o restante distribuídos entre as Regiões Sudeste (13%), Nordeste (9%), Sul (8%) e Centro-Oeste (4%). Os Estados do Pará e Amapá são os que se destacam na região norte, e o Estado de Rondônia tem aproximadamente 6.457 bubalinos (IBGE, 2017; IDARON, 2019).

Por mais que os bubalinos sejam reconhecidos como animais rústicos, com o aumento da produção intensiva, mudanças no seu manejo e criação, eles vêm sofrendo alguns problemas sanitários, em que se tornaram susceptíveis a várias doenças que podem interferir na qualidade de seus produtos. Tais doenças como brucelose, leptospirose, entre outras (OLIVEIRA, 2006). Para a Organização Mundial de Saúde, a brucelose é uma das zoonoses mais importantes do mundo. Sendo seu agente causador bactérias do gênero *Brucella* spp. (Nielsen et al. 2004; Molinaro, 2009; Barbosa et al. 2013). São classificadas em dois grupos antigênicos, as lisas e as rugosas. Sendo a *Brucella abortus* a mais encontrada em bovinos e bubalinos, em que o biovar 1 é o mais encontrado em búfalos no Brasil (Bricker; Halling, 1994; Poester et al. 2002; Megid et al. 2005; Diptee et al. 2006; Foster et al. 2007; Scholz et al. 2008; Barbosa et al. 2013; FAO, 2015).

O impacto econômico que essa doença gera é muito grande, originando prejuízos na produção e saúde animal, principalmente quando se diz a problemas reprodutivos que ela causa e diminuição na produção de leite (Luna-Martínez; Mejía-Terán, 2002; Alves; Villar, 2011).

Nos casos de ruminantes, a infecção da brucelose se dá por meio da ingestão de pastagens, água e alimentos contaminados, contato direto com animais infectados e sêmen de animais positivos (Acha & Szyfres, 2001). Desse modo, as principais formas de infecção são pelas mucosas do trato digestório, genital ou nasal; pela conjuntiva ocular ou pele lesionada. As bactérias, quando ingeridas, são carregadas aos linfonodos e fagocitadas principalmente por macrófagos, onde podem permanecer por meses. A bacteremia poderá ocorrer com as bactérias dentro dos macrófagos ou livres no plasma, alojando-se em tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, tais como baço, fígado, linfonodo, (Harmon et al. 1988; Paulin, 2003; Xavier et al. 2009; Carvalho Neta et al. 2010; Sousa et al. 2015).

Nos bubalinos os sinais clínicos envolvidos se caracterizam mais com o sistema reprodutor do animal, em que a B. abortus está mais presente. Provocando placentite necrótica, morte fetal, metrite, retenção de placenta, higroma articular e abortamentos geralmente no terço final do período gestacional. Caso a búfala consiga finalizar a gestação, o filhote pode nascer fraco e morrer nas primeiras semanas de vida (Grasso & Cardoso, 1998; Láu, 1999). Já nos touros, os sinais clínicos se evidenciam em lesão testicular e das glândulas acessórias, manifestando quadros de epididimite, vesiculite, orquite, provocando subfertilidade ou infertilidade nos animais acometidos, levando grandes perdas nos índices reprodutivos do rebanho (Nicoletti, 1986; Radostits et al. 2007). Em humanos, normalmente a doença se manifesta com sinais de febre intermitente, cefaleia, dores musculares e articulares (Khan, 2019).

O diagnóstico de brucelose deve ser levado em consideração os sinais clínicos, histórico de exposição, de viagens, infecções antecedentes, ocupação do indivíduo e diagnósticos laboratoriais (Al Dahouk et al. 2003; Mantecon et al. 2008; Bosilkovski et al. 2010). Os testes mais utilizados são as culturas, sorológicos, ELISA e moleculares (Mantecon et al. 2008).

De acordo com as normas mencionadas na Instrução Normativa nº 10, de 3 de março de 2017 não é permitido o tratamento de bovídeos com brucelose. E animais que venham a ser reagentes em teste de diagnóstico de triagem devem ser marcados com um “P” a ferro cadente ou nitrogênio líquido pelo médico veterinário responsável pelo exame, serem isolados do rebanho, e abatidos sob estabelecimento de serviço de inspeção oficial no máximo de 30 dias após diagnóstico confirmatório. Caso seja inviável o abate sanitário em estabelecimento, o animal deve ser eutanasiado pelo médico veterinário responsável, sendo o proprietário responsável pelos custos inerentes à destruição das carcaças.

Como forma profilática, existe a vacina viva liofilizada, elaborada com amostra 19 de *Brucella abortus*, que é obrigatória a sua utilização em todas fêmeas das espécies bovina e bubalina, na faixa etária de três a oito meses, caso essa idade seja ultrapassada indica-se a vacinação das fêmeas com a vacina RB 51 que se trata de um mutante rugosa, rinfampicina-resistente e com características semelhantes à B19. Animais vacinados com a RB51 devem ser identificados com “V” (Brasil, 2017).

Desse modo, o objetivo desse trabalho é detectar a presença de anticorpos anti-*Brucella* sp. no rebanho bubalino dos Municípios de Rolim de Moura e Santa Luzia D’Oeste, Rondônia.

2. Material e Métodos

A população do estudo foi constituída por fêmeas bubalinas da raça Murrah, ≥ 24 meses, com aptidão para carne e leite, oriundas de propriedades rurais do Município de Rolim de Moura e Santa Luzia D’Oeste no Estado de Rondônia. Foram coletadas amostras de 34 animais, distribuídos em 05 propriedades (Tabela 1), sendo duas em Rolim de Moura e três em Santa Luzia D’Oeste.

Tabela 1 – Números de animais por propriedade e número de animais testados nos Municípios de Rolim de Moura e Santa Luzia D'Oeste, Rondônia.

Municípios	Identificação das propriedades	Animais por propriedade	Animais testados
Rolim de Moura	Propriedade 1	19	07
	Propriedade 2	17	08
	Propriedade 3	13	04
Santa Luzia D'Oeste	Propriedade 4	12	12
	Propriedade 5	07	03
Total de animais		68	34

Fonte: Autores.

As amostras de sangue foram obtidas no período de fevereiro de 2020 a outubro de 2020. Inicialmente foi realizado assepsia do local de coleta com álcool 70%, e com uma agulha 40 x 1,2 mm acoplada em seringa de 10mL o sangue foi coletado, puncionando a veia safena, região do jarrete (Figura 1). Imediatamente após a coleta o sangue era transferido, retirando a agulha e delicadamente derramado na lateral de tubo sem anticoagulante afim de preservar a qualidade do soro sanguíneo. Cada tudo dos respectivos animais foram devidamente identificados, permanecendo inclinados e em repouso para facilitar retração do coágulo por cerca de 30 minutos em temperatura ambiente. Posteriormente as amostras foram submetidas à centrifugação por 5 minutos a 3000 RPM e o soro obtido foi transferido para microtubos e armazenado a -20 °C, para a realização do teste de AAT no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Rondônia, Campus de Rolim de Moura.

Para o diagnóstico de *Brucella abortus* foi utilizado o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), indicado na Instrução normativa nº 34, de 8 de setembro de 2017. Que consiste em uma soroaglutinação em placa de vidro quadriculada, previamente identificando as amostras, utilizou-se 30 µL de soro sanguíneo e 30 µL do antígeno para realização do teste, homogeneizou-se suavemente em movimentos rotatórios lentos e constantes até o momento da leitura e observou-se após quatro minutos de reação sob luz indireta, sendo considerado positivo quando houvesse aglutinação (formação de grumos), conforme Figuras 2 e 3.

O reagente utilizado foi o antígeno acidificado tamponado, frasco com 5 ml de solução bacteriana de *Brucella abortus*, tamponada a pH 3,6, colorida com rosa bengala. E como controle utilizou-se soro positivo, com presença de aglutinação para comparação as demais amostras.

Afim de realizar um levantamento de informações dos rebanhos, foi aplicado um formulário aos proprietários dos animais, conforme apêndice A. Após coletas dos dados, eles foram tabulados para realizar uma análise descritiva das informações obtidas com o resultado dos exames.

Todos os procedimentos adotados foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal da Universidade Federal de Rondônia, Campus de Rolim de Moura, sob processo nº 006-2021.

3. Resultados e Discussão

A prevalência encontrada no estudo foi de 2,94% (1/34), sendo esse animal positivo (Figura 4) de uma propriedade localizada no Município de Santa Luzia D'Oeste. Afim de confirmar o diagnóstico foi realizado em duplicata o teste em todas as amostras dessa propriedade, reafirmando que somente uma amostra se mostrou positiva.

Trabalhos realizados no Brasil evidenciam que a prevalência dessa doença em búfalos, varia de 1,2% à 69% dependendo da região, rebanho examinado e testes laboratoriais empregados no diagnóstico (Láu; Singh, 1985; Guedes et al. 1997; Fujii et al. 2001; Mólnar et al. 2001; Bastianetto et al. 2005; Viana et al. 2009; Chaves et al. 2012; Carneiro, 2013; Silva et al. 2014; Brasil et al. 2015; Casseb et al. 2015; Rocha et al. 2017; Rocha et al. 2019). Evidenciando que a prevalência encontrada nesses animais foi relativamente baixa comparando-o aos demais estudos.

Existem dois fatores que podem estar ligados a essa baixa prevalência encontrada, um deles é por esses animais serem previamente vacinados com a vacina B-19 que pode proteger os animais pelo período de sete anos da doença (RAMOS, 2007), e o outro fator é pelo teste escolhido para o diagnóstico ser um teste mais utilizado como triagem e não confirmatório, sendo ideal que futuramente se faça outro método de diagnóstico dessas amostras afim de confirmar esses dados.

Fosgate et al. (2002) observaram que o desempenho dos testes sorológicos varia de acordo com a espécie testada. Molnár et al. (2002) mostraram que o teste de Elisa indireto se apresentou mais sensível que específico em bubalinos. Eles realizaram um levantamento sorológico com 440 amostras de soros bubalinos com o teste de AAT e Elisa indireto, e verificaram que o teste de Elisa com conjugado contra IgG bovino total teve sensibilidade de 97,14% e especificidade de 95,66%, já o teste de AAT teve 91,42% de sensibilidade e 94% de especificidade, as amostras positivas e ambos os testes foram semelhantes, porém no AAT, 13 amostras foram falso-positivas, 17 falso-negativas e no teste de Elisa as amostras falso-positivas e falso-negativas foram próximas do valor de corte (resultados incertos ou suspeitos).

Mas é importante mencionar que o teste de ELISA indireto em rebanhos bovinos vacinados aumenta a chance de resultados positivos no teste de triagem, sendo ideal que mesmo utilizando a técnica, seja realizado outro método para confirmação, pois a técnica aumenta o sacrifício de animais falso-positivos devido sua alta sensibilidade, inclusive na detecção de imunoglobulinas residuais da vacina B-19. (Jardim et al. 2009).

Mesmo a prevalência sendo baixa, é importante relatar que a doença se encontra presente em espécies de bubalinos e bovinos nos rebanhos brasileiros, demonstrando um potencial risco de transmissão do agente para outras espécies de animais e até mesmo aos humanos que manejam esses rebanhos, principalmente se não realizarem o uso correto de equipamento de proteção individual (EPI) (Rocha et al. 2019).

As propriedades estudadas continham características muito parecidas uma das outras, como ilustra a Tabela 2. O que diferenciou a propriedade do animal reagente, das demais foi a presença de animais silvestres na propriedade. O que gera um maior risco de infecções de algumas doenças providas do âmbito silvestre para o âmbito rural.

Tabela 2 - Características produtivas e sanitárias das cinco propriedades de búfalos no Município de Rolim de Moura e Santa Luzia D'Oeste no Estado de Rondônia, dados do ano de 2017.

Variáveis	Averiguação	Propriedades de Rolim de Moura (duas)	Propriedade de Santa Luzia D'Oeste (três)	Frequência (%)
Sistema de criação	Intensivo	-	-	0
	Semi-intensivo	-	-	0
	Extensivo	2	3	100
Tipo de produção	Carne	-	-	0
	Leite	-	-	0
	Misto	2	3	100
Tipo de ordenha	Manual	2	2	80
	Mecânica	-	1	20
	Nenhuma	-	-	0
Número de ordenhas por dia	Uma vez	2	3	100
	Duas vezes	-	-	0
Resfriamento do leite	Sim	2	3	100
	Não	-	-	0
Espécies de animais na propriedade	Cão	2	3	100
	Felino	1	1	40
	Bovino	2	3	100
	Equino	2	3	100
	Cabra	-	-	0
	Ovelha	1	1	40
	Suínos	1	1	40
	Aves	1	3	80
Animais selvagens	Sim	-	1	20
	Não	2	2	80
Ocorrências de aborto espontâneo nos últimos 12 meses	Sim	2	3	100
	Não	-	-	0
Presença de roedores	Sim	2	3	100
	Não	-	-	0
Uso de controle de roedores	Sim	-	-	0
	Não	2	3	100
Alimentação em pastagem nativa	Sim	2	3	100

	Não	-	-	0
	Bebedouro	-	-	0
Fonte de água	Pontos de água	-	-	0
	Água corrente	2	3	100
	Água parada	-	-	0
Compras de animais	Sim	-	-	0
	Não	2	3	100
Aluguel de pastagens	Sim	-	-	0
	Não	2	3	100
Presença de áreas inundadas	Sim	2	3	100
	Não	-	-	0
Presença de maternidades	Sim	-	-	0
	Não	2	3	100
Separação de jovens de adultos animais	Sim	-	-	0
	Não	2	3	100
Presença de assistência veterinária	Sim	-	-	0
	Não	2	3	100

Fonte: Autores.

Todas as propriedades observadas possuíam um sistema de criação extensivo e com criação conjunta com bovinos, o que Kant e colaboradores (2018) relataram, que normalmente criações de búfalos é mais comum terem criação extensivas, com animais livres no pasto e consorciada com bovinos. Essas características também são fatores que estão muito ligados a maiores infecções de doenças em espécies como essas, em que a *Brucella abortus* é a mais presente.

Além dos bovinos, cães também tem um papel importante na disseminação da brucelose, principalmente em propriedades rurais em que normalmente esses animais tem contato com restos placentários, leite, fômites que podem ser fontes de infecção da doença (Pessegueiro, Barata & Correia, 2003). E o que confirma nesse estudo é que todas propriedades também possuem cães e outras espécies de animais que podem veicular e facilitar essa disseminação. E outro ponto relevante é que todas as propriedades relataram presença de aborto espontâneo nos últimos 12 meses nos animais das propriedades, sendo ideal investigar as possíveis causas desse acontecimento nos animais.

4. Conclusão

Houve uma búfala positiva para *Brucella abortus* pelo teste de AAT na propriedade de Santa Luzia D'Oeste, porém é necessário realizar outras técnicas de diagnóstico que confirmem esses dados encontrados.

Referências

Acha, P. N. & Szyfres, B. (2001). *Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y los animales: v.1. Bacteriosis y micosis*. 3. ed. Washington: OPS, 2001.

- Al dahouk, S. et al. (2003). Laboratory-based diagnosis of brucellosis-a review of the literature. Part II: serological tests for brucellosis. *Clin Lab.*, 49: 577–589.
- Alves, A. J. S. & Villar, K. S. (2011). Brucelose Bovina e sua situação sanitária no Brasil. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP*, 9(2): 12–17.
- Barbosa, B. et al. (2013). Análise da sensibilidade e especificidade do gene virb5 na detecção de *Brucella* spp. por pcr em sangue de bovinos. *Bio (In) Formação*, 6(6): 6-17.
- Bastianetto, E. et al. (2005). Brucelose em rebanhos de búfalos criados na região do Alto São Francisco – Minas Gerais. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 29(21): 55-56.
- Bosilkovski, M. et al. (2010). The role of Brucellacapt test for follow-up patients with brucellosis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 33: 435–442.
- Brasil, A. W. L. et al. (2015). Occurrence of anti-*Brucella abortus* and anti-*Leptospira* spp. antibodies in buffaloes from Paraíba state, Northeastern Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 36(3): 2005-2012.
- BRASIL. (2017). Instrução Normativa SDA nº 10, de 3 de março de 2017. Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal – PNCEBT. Brasília.
- Bricker, B. J. & Halling, S. M. (1994). Differentiation of *Brucella abortus* bv. 1, 2, and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella suis* bv. 1 by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(11): 2660-2666.
- Carneiro, D. S. (2013). *Prevalência de anticorpos anti-Brucella abortus em búfalos abatidos em matadouro público no Município de Parintins, Amazonas.* (Relatório Final de Iniciação Científica). Universidade Federal do Amazonas.
- Carvalho Neta, A. V. et al. (2010). Pathogenesis of bovine brucellosis. *Vet. J.*, 184(2): 146-155.
- Casseb, A. R. et al. (2015). Soroprevalência da brucelose bovina e bubalina no Estado do Pará. *Veterinária e Zootecnia*, 22(1): 42-45.
- Chaves, N. P. et al. (2012). Intercorrência entre leucose enzoótica e brucelose em búfalos (*Bubalus bubalis*) em sistema de produção extensivo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32(2): 131-134.
- Diptee, M. D. (2006). Serologic responses, biosafety and clearance of four dosages of *Brucella abortus* strain RB51 in 6–10 months old water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 109: 43–55 doi:10.1016/j.vetimm.2005.07.020.
- FAO. (2015). *Food and Agriculture Organization of the United Nations. Bovine brucellosis. Health, diseases cards.* <http://www.fao.org/ag/againfo/programmes/en/empres/gemp/avis/B103brucellosis/mod1/1110-Culture.html>.
- FAO. (2017). *Food and Agriculture Organization of the United Nations. Faostat – Statistics Database.* <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>>.
- Fosgate, G. T. et al. (2002). Isolation of *Brucella abortus* biovar 1 from cattle and water buffalo of Trinidad. *Vet. Rec.* 151: 272–273.
- Foster, G. et al. (2007). *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(11): 2688-2693. DOI 10.1099/ijs.0.65269-0.
- Fujii, T. U. et al. (2001). Anticorpos anti- *Neospora caninum* e contra outros agentes de abortamentos em búfalas da região do Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. *Arquivo Instituto Biológico*, 68(2): 5-9.
- Gonçalves, O. (2008). *Características de criações de búfalos no Brasil e a contribuição do marketing no agronegócio brasileiro.* Tese (Doutorado) - Curso de Zootecnia, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- Grasso, L. M. P. S. & Cardoso, M. V. (1998). Brucelose bovina. *Biológico*. 60: 71-79.
- Guedes, V. T. M. et al. (1997). Exames sorológicos e bacteriológicos a respeito da brucelose bubalina no Estado do Pará. In: *Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, 25, 1997, Gramado, RS. Resumos. Gramado.
- Harmon, B. G., Adams, L. G. & Frey, M. (1988). Survival of rough and smooth strains of *Brucella abortus* in bovine mammary gland macrophages. *Am. J. Vet. Res.* 49(7): 1092-1097.
- Instituto brasileiro de geografia e estatística – IBGE. (2017). Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária. Pesquisa da Pecuária Municipal.:<<http://www.biblioteca.ibge.gov.br>>.
- Jardim, G. C. et al. (2009). Comparação do ELISA indireto no diagnóstico da brucelose em rebanho bovino vacinado e não vacinado. *Agrarian*, 2(5): 131-142.
- Kant, N. et al. (2018). A study to identify the practices of the buffalo keepers which inadvertently lead to the spread of brucellosis in Delhi. *BMC veterinary research*, 14(1): 1-8.
- Khan, A. U. et al. (2019). Identification, genotyping and antimicrobial susceptibility testing of *Brucella* spp. isolated from livestock in Egypt. *Microorganisms*, 7(12): 603.
- Láu, H. D. & Singh, N. P. (1985). Distribuição e prevalência da brucelose em búfalos no estado do Pará. *Boletim de Pesquisa, EMBRAPA-CPATU*, 76.
- Láu, H. D. (1999). *Doenças em búfalos no Brasil, diagnóstico, epidemiologia e controle.* Brasília: Embrapa.
- Luna-Martínez, J. E. & Mejía-Terán, C. (2002). Brucellosis in Mexico: current status and trends. *Veterinary Microbiology*, 90: 19–30.

- Mantecon, M. L. A. et al. (2008). Influence of brucellosis history on serological diagnosis and evolution of patients with acute brucellosis. *Journal of Infection*, 57(5): 397-403. doi: 10.1016/j.jinf.2008.08.005.
- Megid, J. (2005). Isolation of *Brucella abortus* from cattle and water buffalo in Brazil. *Veterinary Record*. 156: 147-148.
- Molinaro, E. M. (2009). *Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde: volume 1*. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC.
- Molnár, L. et al. (2002). Avaliação de seis testes sorológicos no diagnóstico da brucelose bubalina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 22(2): 41-44.
- Nardi Júnior, G. et al. (2012). Brucelose em bubalinos: uma revisão com ênfase ao sorodiagnóstico oficial. *Veterinária e Zootecnia*, 142-156.
- Nielsen, K. (2004). Serological relationship between cattle exposed to *Brucella abortus*, *Yersinia enterocolitica* O:9 and *Escherichia coli* O157:H7. *Veterinary Microbiology*, 100: 25-30, doi:10.1016/j.vetmic.2003.12.010.
- Nicoletti, P. (1986). Brucellosis on bovine reproductive efficiency. In: Morrow, D. A. *Current therapy in theriogenology*. Philadelphia: W.B. Saunders. 271-274.
- Oliveira, M. C. S. (2006). *Doenças infecciosas em sistemas de produção de leite*. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste.
- Paulin, L. M. & Ferreira Neto, J. S. (2003). *O combate à brucelose bovina. Situação atual*. Jaboticabal: Editora Funep.
- Pessegueiro, P., Barata, C. & Correia, J. (2003). Brucelose – uma revisão sistematizada. *Medicina Interna*, 10(2).
- Poester, F. P. (2002). Brucellosis in Brazil. *Veterinary Microbiology*. 90:55–62.
- Radostits, O. M. et al. (2007). *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*. 10th ed. Philadelphia: W.B. Saunders.
- Ramos, T. R. R. (2007). *Aspectos epidemiológicos da infecção por Brucella abortus em bovinos leiteiros e em grupos ocupacionais de risco na Microrregião de Araguaia, Tocantins*. 104f. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- Rocha, K. P. C. et al. (2017). Utilização de um teste ELISA indireto para o diagnóstico da brucelose em amostras de soro de búfalas. *Revista Científica de Medicina Veterinária*, 10(30): 1679-7353.
- Rocha, K. S. et al. (2019). Detecção de anticorpo anti-*Brucella* sp. e anti-*Leptospira* spp. em búfalos (*Bubalus bubalis*) abatidos em matadouro na cidade de Belém, Pará. *Revista de Ciências Agrárias - Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 62.
- Scholz, H. C. et al. (2008). *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Reading, [online], 58: 375–382. <http://ijs.sgmjournals.org/cgi/content/abstract/58/2/375>.
- Silva, J. B. et al. (2014). Serological survey and risk factors for brucellosis in water buffaloes in the state of Pará, Brazil. *Tropical Animal and Health Production*, Edinburgh, 46: 385-389.
- Sousa, M. G. S. et al. (2015). Detecção de *Brucella abortus* em linfonodos de búfalas (*Bubalus bubalis*) em diferentes fases da gestação. *Pesq. Vet. Bras.* 35(12): 951-955.
- Viana, R. B. et al. (2009). Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, *Brucella* sp. e *Leptospira* spp. em búfalos (*Bubalus bubalis*) criados na Amazônia. *Arquivos do Instituto Biológico*, 76(3): 453-457.
- Xavier, M. N. et al. (2009). Pathology, immunohistochemistry and bacteriology of tissues and milk of cows and fetuses experimentally infected with *Brucella abortus*. *J. Comp. Pathol.* 140(2/3): 149-157.