

TUBERCULOSE CAPRINA: ASPECTOS NOSOLÓGICOS, RADIOLÓGICOS, ANATOMO-HISTOPATOLÓGICOS E PRESENÇA DO COMPLEXO *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* EM CAPRINOS LEITEIROS DO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL

MELO, L.E.H.^{1*}; MELO, M.T.¹; LEITE, J.E.B.¹; MAIA, F.C.L.¹; MOTA, R.A.¹; SCHINDLER, H.C.²; LIMA, J.F.C.²; CASTRO, R.S.¹; SANTOS, N. V. M.¹; SÁ, L.M.³

Introdução

O complexo *M. tuberculosis* é formado pelas espécies *M. tuberculosis* e *M. bovis*, e por espécies descritas mais recentemente, como *M. caprae* (ARANAZ et al., 2003) e *M. pinnipedii* (COUSINS et al., 2003), isoladas de caprinos e leão marinho, respectivamente.

Postulou-se por muito tempo que os caprinos eram naturalmente resistentes à infecção pelo *M. bovis* (MURRAY et al., 1921; GUTIÉRREZ et al., 1995). Todavia, a infecção nesta espécie tem registros de sua ocorrência nos Estados Unidos (ANDERSON; KING, 1993), México (REYNOSO et al., 1999), Inglaterra (SOLIMAN et al., 1953), Espanha (GUTIÉRREZ et al., 1998), Austrália (COUSINS et al., 1993), Índia (KAKKAR et al., 1977; SHARAN et al., 1998) e África (MILNE, 1955). Sua gênese encontra-se estreitamente associada à proximidade com rebanhos bovinos infectados (REYNOSO et al., 1999; PUGH, 2004).

No Brasil, a Tuberculose Caprina e suas implicações na saúde pública são ainda desconhecidas, admitindo-se, inclusive, que não existem dados que justifiquem a implantação de medidas específicas visando o controle sistemático da doença em pequenos ruminantes (MAPA, 2001).

No Estado de Pernambuco, estudos vêm sendo realizados desde 2005 com o objetivo de elucidar a etiopatogenia de síndromes respiratórias que ocorrem em caprinos leiteiros. Inicialmente foram identificados caprinos reagentes ao teste tuberculínico com prevalência de 7,7% (13/168) (MELO, 2005; MELO et al., 2005 a,b), alertando-se, inclusive, para a possibilidade de sua intercorrência com a tuberculose bovina. Em outro estudo, observaram-se abscessos orais em 6,2% (13/211) em caprinos reagentes à tuberculinização e/ou portadores de abscessos linfáticos, aspectos nosológicos que colocam Tuberculose Caprina e Linfadenite Caseosa Caprina no mesmo plano de investigação clínico-epidemiológica (SALDANHA et al., 2005).

As implicações da Tuberculose Caprina na saúde pública e o seu papel na gênese da Tuberculose Zoonótica são desconhecidos. Contudo, admite-se sua transmissibilidade para humanos (GOLDEN, 1921; FERNANDES, 2002) e reconhece-se a coexistência da doença com a tuberculose humana (RUFINO-NETO, 2001) e bovina (MELO, 1999; MELO et al., 1999; MAPA, 2001; MELO et al., 2005b; SILVA et al., 2006), em meio à existência de um mercado informal de leite (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BUIATRIA, 1998; FARINA et al., 2000) e ao hábito cultural da população em consumir este leite *in natura*.

Em relação ao diagnóstico, o teste da tuberculina foi aplicado a caprinos experimentalmente sensibilizados com o objetivo de estabelecer padrões de interpretação para o diagnóstico nesta espécie animal, sendo utilizados como inóculos sensibilizantes suspensões de *M. avium* (estirpe D4) e *M. bovis* (estirpe AN5) e como antígenos atenuados tuberculinas aviária e bovina (SILVA et al., 2006).

^{1,3} lucio@dmv.ufrpe.br. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos-PECEP.52171-900 – Recife -PE;

² haiacpqamfiocruz.br. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fiocruz

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sensibilizado com as demandas desse importante setor produtivo da ovinocaprinocultura, instituiu, através da Secretaria de Defesa Agropecuária (DAS), o Programa Nacional de Sanidade de Caprinos e Ovinos (PNSCO), que tem como objetivo o controle e erradicação das doenças de caprinos e ovinos por meio de ações sanitárias e de vigilância epidemiológica (MAPA, 2004). Contudo, não contemplou medidas específicas para o diagnóstico e controle da tuberculose, talvez pela falta de informações que possam subsidiar a tomada de decisões.

Nesse contexto, a Tuberculose Caprina surge como uma grave ameaça à sanidade dos rebanhos nacionais, uma vez que o país possui um expressivo efetivo de 7.109.052 de cabeças (IBGE, 2006), com potencial inquestionável de expansão. Estabelece-se, assim, um novo paradigma na sanidade caprina nacional, um dos mais relevantes desafios às autoridades sanitárias, produtores e comunidade científica, não apenas pelos prejuízos econômicos que a doença poderá causar, mas, também, pelas possíveis implicações na saúde pública.

Este estudo foi realizado com o objetivo de descrever os aspectos nosológicos, radiológicos e anatomo-histopatológicos, bem como a detecção da presença do DNA do complexo *Mycobacterium tuberculosis* pela Nested-PCR, em caprinos leiteiros com doença respiratória, naturalmente infectados e procedentes da Mesoregião Metropolitana de Recife.

Material e Métodos

Foram considerados neste estudo quatro rebanhos das raças Saanen, Toggenburg e Parda Alpina, que apresentavam diminuição na produção de leite e animais positivos para Linfadenite Caseosa e Artrite Encefalite Caprina. De um total de 368 animais, 168 cabras (45,6%), com idades entre dois e sete anos, apresentaram sintomas respiratórios e foram submetidas ao exame clínico e ao teste tuberculínico (Teste Cervical Comparativo - TCC), usando tubérculo-proteínas de *M. bovis* AN5 (PPD bovino) ou de *M. avium* D4 (PPD aviário)⁴.

Foi utilizado o Teste Cervical Comparativo (TCC), tomando-se como referência os procedimentos do PNCEBT (MAPA, 2004) e dos ensaios experimentais padronizados experimentalmente para caprinos (SILVA et al., 2006). Na interpretação do teste, a reação foi considerada: *negativa*, quando a variação decorrente da reação ao PPD bovino for menor que o aviário ou maior em até 1,8 mm (=1,8); *suspeita* ou *inconclusiva*, quando a reação ao PPD bovino for maior que ao aviário situando-se entre 1,9 e 2,4 mm; e *positiva*, quando a reação ao PPD bovino for maior ou igual ao aviário em 2,5 mm (= 2,5).

A descrição dos aspectos nosológicos, radiológicos, anatomo-histopatológicos e baciloscópicos foi realizada seguindo procedimentos clássicos (VASCONCELOS, 1996; RADOSTITIS et al., 2002; PUGH, 2004).

Os ensaios moleculares (PCR) foram conduzidos no Laboratório de Imunoepidemiologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM - FIOCRUZ). Utilizou-se amostra de sangue total de caprino, com presença de anticoagulante (EDTA), para detecção da presença do DNA do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, empregando a Nested-PCR, onde o produto amplificado na primeira reação serviu como molde para a segunda reação, com a finalidade de aumentar a sensibilidade da técnica. Os oligonucleotídeos utilizados foram para a seqüência de inserção IS6110, específica do complexo *M. tuberculosis*, podendo ser encontrado cerca de seis a 20 cópias no genoma da micobactéria.

Resultados e Discussão

⁴ Tuberculinas bovina e aviária. Produção: Laboratório TECPAR - Instituto de Tecnologia do Paraná; Controle de qualidade: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

As cabras submetidas ao exame clínico (45,6% - 168/368) apresentaram emaciação, anemia, hipertrofia de linfonodos e sinais respiratórios anormais, incluindo respiração abdominal, tosse associada à secreção nasal de coloração amarelada, áreas de silêncio pulmonar alternadas com crepitações e sibilos, além de abscessos localizados no vestíbulo bucal. No total das 168 cabras examinadas, 13 (7,7%) foram reagentes ao TCC e apresentaram intensidades das reações imunoalérgicas às tuberculinas bovina e aviária, em valores médios, de $14,1 \pm 6,2$ e $6,4 \pm 4,2$ mm, respectivamente, sendo a diferença entre as duas de $7,7 \pm 3,4$ mm. Seis dessas cabras reagentes foram monitoradas clinicamente durante 36 meses e submetidas a mais quatro testes tuberculínicos. Todos foram positivos e apresentaram intensidades das reações imunoalérgicas às tuberculinas bovina e aviária, em valores médios de $13,5 \pm 5,4$ e $5,9 \pm 3,2$ mm, respectivamente, sendo a diferença entre as duas de $7,6 \pm 4,2$ mm. Nas imagens radiológicas de tórax das seis cabras detectou-se opacificação de ambos os campos pulmonares, com a presença de nódulos radiopacos circunscritos, de tamanhos variados, ora grandes granulomas, que comprometiam o lobo diafragmático, ora pequenos, típicos de tuberculose miliar. Durante o período das investigações duas cabras vieram a óbito por colapso cárdio-respiratório. Três foram submetidas à eutanásia em decorrência do avançado estado de caquexia e uma ainda permaneceu sob monitoramento clínico. Todos os animais mortos foram necropsiados e nos achados anatomopatológicos observaram-se lesões predominantemente pulmonares, focais ou difusas, ocasionalmente associadas a lesões hepáticas. Macroscopicamente, observou-se consolidação do parênquima pulmonar, com a presença de lesões nodulares salientes e difusas, de tamanho variado e coloração amarelada. Ao corte, as lesões apresentavam consistência e aspecto friável, com endurecimento num plano mais profundo, coincidindo com áreas de calcificação e de consistência arenosa ou pétreas. Observaram-se alterações hepáticas em duas das cabras necropsiadas, caracterizadas por lesões de tamanho que variavam de pequenos pontos até 2,5 cm de diâmetro, de consistência caseosa e coloração amarelada. Observaram-se alterações hepáticas em duas das cabras necropsiadas, caracterizadas por lesões de tamanho que variavam de pequenos pontos até 2,5 cm de diâmetro, de consistência caseosa e coloração amarelada. Os achados histopatológicos encontrados nos fragmentos de pulmão incluíam áreas de necrose de caseificação com calcificação distrófica no centro, circundadas por cápsulas conjuntivas no formato de granulomas incompletos, caracterizadas pelo agregado concêntrico de macrófagos diferenciados em células epitelióides, que se fundiam frequentemente para formar as células gigantes de Langhans. No exame baciloscópico, foram detectados bacilos álcool-ácido resistentes ao exame direto de fragmentos pulmonares lesados de duas cabras. A partir de amostra de sangue de uma dessas cabras, identificou-se a presença do DNA do Complexo *Mycobacterium tuberculosis*.

Neste estudo, o teste da tuberculina, que é recomendado oficialmente no país para diagnóstico da doença em bovinos (MAPA, 2001), reproduziu nos caprinos o mesmo modelo biológico classicamente observado nos bovinos, reafirmando os resultados obtidos em caprinos experimentalmente sensibilizados (SILVA et al., 2006) ou naturalmente infectados (MELO, 2005; MELO et al., 2005a,b; SALDANHA et al., 2005). Contudo, o aperfeiçoamento do diagnóstico da Tuberculose Caprina praticado neste estudo, através da validação da tuberculinização em ensaios de campo e do desenvolvimento de uma PCR para a detecção e diferenciação de espécies do Complexo *Mycobacterium tuberculosis*, à semelhança do que se faz diante da dificuldade do diagnóstico da tuberculose humana utilizando o teste de Mantoux (CABRAL et al., 2005; LIMA et al., 2007), minimizou certos problemas intrínsecos ao teste imunoalérgico, como reações inespecíficas, resultados falso-negativos observados em animais anérgicos, e às técnicas microbiológicas, cuja reduzida quantidade de bacilos nos materiais biológicos

usados para isolamento resulta em crescimento lento e expressivo número de resultados falsos negativos.

Por outro lado, certas inconsistências observadas na PCR para *Mycobacterium* podem ser atribuídas ao material biológico utilizado, sua conservação, método de extração do DNA, dentre outros (NOREDHOEK et. al, 1996). Contudo, os *oligonucleotídeos* utilizados com vários PCR têm se mostrado adequados, pois as seqüências gênicas utilizadas para escolha são bastante conservadas entre as espécies do grupo *Mycobacterium tuberculosis*. Esses trabalhos foram conduzidos com bovinos, não havendo relatos de suas aplicações na espécie caprina. É sabido que a dinâmica da multiplicação e eliminação dos agentes do Complexo *M. tuberculosis* varia de acordo com os diferentes hospedeiros. Por isto, é necessário avaliar diferentes materiais biológicos para extração do DNA bacteriano para estabelecer qual é o ideal a ser usado como amostra para submissão para diagnóstico de tuberculose em caprinos.

Conclusão

Considerando a positividade no teste tuberculínico, na baciloscopia e na Nested-PCR, associada aos achados nosológicos, radiológicos e anátomohistopatológicos, conclui-se que a síndrome respiratória manifestada pela população caprina examinada refere-se à tuberculose caprina. A elucidação de sua etiopatogenia, além de eliminar o conceito da inexistência da doença no país, constituindo-se no primeiro relato dessa enfermidade no país, contribuirá, certamente, para a implementação de ações de controle e profilaxia da tuberculose.

Referências

- ANDERSON, W.; KING, J. M. *Mycobacterium avium* infection a pygmy goat. **The Veterinary Record**, v. 133, n. 20, p. 502, 1993.
- ARANAZ A., COUSINS D., MATEOS A. & DOMINIGUEZ L. (2003). Elevation of *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* Aranaz et al. 1999 to species rank as *Mycobacterium caprae* comb. nov., sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 53, 1785–1789;
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BUIATRIA. **Informativo da Associação Brasileira de Buiatria**, n.II/12, 1998. 2p.
- CABRAL, M.M.L.; AZEVEDO, B.C.C.A.; MONTENEGRO, L.M.L.; et al. Espondilite Tuberculosa em Adolescente: Relato de Caso. **Jornal Brasileiro de Pneumologia, São Paulo**, v. 31, p. 261-264, 2005.
- COUSINS D.V.; BASTIDA R., CATALDI A.; et al. Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp. nov. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, v. 53, p.1305–1314, 2003.
- COUSINS, D. V.; CASEY, R.; MAYBERRY, C. *Mycobacterium bovis* infection in a goat. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, n. 7, p. 262-263, 1993.
- FARINA, E. M. M.Q.; JANK, M. S.; NASSAR, A. M.; RIBEIRO, F. A. F. Leite clandestino: um problema real! Milkpoint - www.milkpoint.com.br, 2000. Acesso em: 01.12.2000.
- FERNANDES, M. A. Avaliação das características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite de cabras, das raças Saanen e Alpina, criadas no Estado de São Paulo. 2002. 152f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2002.
- GOLDEN, G.E. Tuberculosis in milk goats. **Journal of the American Veterinary Medical Associations**, v. 59, p. 79-81, 1921.

- GUTIÉRREZ, M.; SAMPER, S.; GAVIGAN, J.; et al. Differentiation by molecular typing of *Mycobacterium bovis* strains causing tuberculosis in cattle and goats. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, n. 11, p. 2953-2956, 1995.
- GUTIÉRREZ, M.; TELLECHEA, J.; GARCIA MARÍN, J. F. Evaluation of cellular and serological diagnostics tests for the detection of *Mycobacterium bovis* infected goats. **Veterinary Microbiology**, v. 62, p. 281-290, 1998.
- HUARD, R.C.; OLIVEIRA, L. L.C.; B.W.R.; et al. PCR-based method to differentiate the subspecies of the *Mycobacterium tuberculosis* complex on the basis of genomic deletions. **J. Clin. Microbiol.**, v. 41, n.4, 1637–1650, 2003.
- IBGE. Efetivo dos rebanhos, segundo as grandes regiões e unidades da federação. Rio de Janeiro, 2006. Disponível em: <ibge.gov.br>. Acesso em 12 fev. 2006.
- Instrução Normativa Nº 87, de 10 de dezembro de 2004, 2004.** Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>.
- KAKKAR, K. C.; SINGH, C. D. N.; SINHA, B. K. Caprine tuberculosis. **Indian Veterinary Journal**, v. 54, p. 936-937, 1977.
- LIMA, J. F. A. ; CRUZ, H. L. A. ; Poroca, D. R. ; et al. Avaliação preliminar de diferentes pares de oligonucleotídeos utilizados na reação em cadeia da polimerase-PCR, dirigido para amplificação do alvo IS6110, na detecção específica de *Mycobacterium tuberculosis*. In: Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental-FeSBE., 2007, Recife. **Anais...II Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental-FeSBE., 2007.**
- MELO, L E H.; D'ANGELINO J. L.; CASTRO, R.S.; et al. Prevalência de vacas reagentes à tuberculinização simultânea em rebanhos produtores de leite do tipo C do Estado de São Paulo. **Ciência Veterinária nos trópicos**, Recife-PE, v. 2, n. 2, p. 91-99, 1999.
- MELO, L.E.H. **Avaliação da Intercorrência entre Leucose Enzoótica, Tuberculose e Leptospirose dos bovinos em rebanhos produtores de leite C do Estado de São Paulo.** USP, 1999, São Paulo – Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo.
- MELO, L.E.H.; ALMEIDA, A.V.; SILVA, J.Á.A.; et al. An alert for the zoonotic character of the Bovine Tuberculosis. In: I ENCONTRO NACIONAL DE TUBERCULOSE, Ministério da Saúde, Rede Brasileira de Pesquisa em tuberculose, Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Brasília, **Anais**, 2004.
- MELO, L.E.H.; MELO, M.T.; ALMEIDA, A.V.; et al. **Intercorrência entre tuberculose bovina e caprina: um fator de risco da tuberculose zoonótica no Estado de Pernambuco.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SAÚDE PÚBLICA VETERINÁRIA, 1, 2005, Guarapari. **Anais... Guarapari : Conselho Federal de Medicina Veterinária, 2005.b**
- MELO, M.T. **Ocorrência da tuberculose caprina na mesorregião metropolitana de Recife: diagnóstico e intercorrência com a tuberculose bovina.** UFRPE, 2006, Recife – Tese (Doutorado) Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- MELO, M.T.; MELO, L.E.H.; SALDANHA, S.V.; et al. **Ocorrência da tuberculose caprina no Estado de Pernambuco.** In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO (Raib), 18, 2005, São Paulo. **Anais... São Paulo: Instituto Biológico, 2005a**
- MILNE, A. H. An outbreak of tuberculosis in goats in Tanganyica. **The Veterinary Record**, v. 647, p. 374-375, 1955.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA, 2001. **Regulamento Técnico do Programa Nacional de Combate e Erradicação da Brucelose e Tuberculose, 2001.** Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA, 2004.**

- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Bacteriologia da Tuberculose**. 2 ed. FNS/CENEPUCNPS/Centro de Referência Prof. Hélio Fraga. Rio de Janeiro. 1994, 115 p.
- MONAGHAN, M., QUINN, P. J., KELLY, A. P., MCGILL, K.; MCMURRAY, C.; O'CROWLEY, K.; BASSETT, H. F.; COSTELLO, E.; QUIGLEY, F. C.; ROTHEL, J.S.; WOOD, P. R.; COLLINS, J. D. A pilot trial to evaluate the G-interferon assay for the detection of Mycobacterium bovis infected cattle under Irish conditions. **Ir. Vet. Journal**, n. 50, p. 229–232. (1997).
- MURRAY, C.; MCNUT, S. H.; PURWIN, P. Tuberculosis of goats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 40, p. 82-84, 1921.
- NOREDHOEK G.T., VAN EMBDEN J.D.A. & KOLK A.H.J. (1996). Reliability of nucleic acid amplification for detection of Mycobacterium tuberculosis: an international collaborative quality control study among 30 laboratories. **J. Clin. Microbiol.**, 34, 2522–2525
- PARSONS L.M., BROSCHE R., COLE S.T., SOMOSKOVI A., LODER A., BRETZEL G., VAN SOOLINGEN D., HALE Y.M. & SALFINGER M. (2002). Rapid and simple approach for identification of Mycobacterium tuberculosis complex isolates by PCR-based genomic deletion analysis. **J. Clin. Microbiol.**, 40 (7), 2339–2345;
- PUGH, D. G. Clínica de Ovinos e Caprinos. São Paulo: Roca, 2004. 513p.
- RADOSTITIS, O.M.; CLIVE, C.G.; BLOOD, D.C.; et al. **Clínica veterinária: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.
- REYNOSO, B. A.; CASILAS, I.C.R.; APARICIO, E.D.; et al. Diagnostico de tuberculosis en hatos de caprinos empleando la prueba intradérmica doble comparativa y cultivo bacteriológico. **Técnica Pecuaria en México**, v.37(1), p.55-58 1999.
- RUFINO-NETO, A. Programa de Controle da Tuberculose no Brasil. Situação Atual e Novas Perspectivas. Informe Epidemiológico do SUS, v. 10, n.3, p.129-138. 2001
- SÁ, L. M.; MELO, LE. H.; FERNANDES, A. C.C. et al. Reteste em caprinos para validação do teste da tuberculina. In: VI JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO (Jepex), 6, 2006, Recife, **Anais...Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco**, 2006.
- SALDANHA, S.V.; EVÊNCIO-NETO, J.; MELO, L.E.H.; et al. **Caracterização das alterações buco-dentais de caprinos criados no Sertão e Zona da Mata do Estado de Pernambuco**. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO (Raib), 18, 2005, São Paulo. **Anais... São Paulo: Instituto Biológico**, 2005.
- SHARAN, A.; THAKUR, H.N.; PRASAD, L. N.; MUKHERJEE, G.; SINHA, A.K. Uma nota sobre a tuberculose em cabras. **Indian Veterinary Journal**, v. 12, p. 184-186, 1988.
- SILVA, P.E.G.; PINHEIRO, S.R.; LEAL, M.L.R.; BERTAGNON, H.G.; MOTA, P;M;P.C.; SINHORINO, I.L.; VASCONCELLOS, S.A.; BENESI, F. J. Teste de tuberculização em caprinos (Capra hircus) experimentalmente sensibilizados. **Ciência Rural**, v.36, n.3, 2006.
- SILVA, R. A. A.; MELO, L. E. H.; FERNANDES, A. C. C.; et al. Novos dados sobre a prevalência de vacas reagentes à tuberculização em rebanhos leiteiros do Estado de Pernambuco. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO (Jepex), 6, 2006, Recife. **Anais...Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco**, 2006.
- VASCONCELOS, A.C. 1996. Necropsia e conservação de espécimes para laboratório. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária da UFMG**, n.16, 5-30p.