

ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DAS CONDENAÇÕES DE BOVINOS POR TUBERCULOSE EM ABATEDOUROS DO ESTADO DE SÃO PAULO

J.H.H. Grisi Filho, C.A.R. Rosales, F. Ferreira, M. Amaku, R.A. Dias, J.S. Ferreira Neto

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP 05508-270, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: jsoares@vps.fmvz.usp.br

RESUMO

A partir de informações e amostras coletadas em abatedouro, o presente estudo estabeleceu o perfil dos animais condenados por tuberculose em abatedouros do Estado de São Paulo e também caracterizou as suas propriedades de origem. Entre maio de 2002 a janeiro de 2004, foram colhidas 587 amostras de lesões sugestivas de tuberculose em 79 abatedouros bovinos do Estado de São Paulo, das quais foram obtidos 253 isolados de *Mycobacterium bovis*. Um conjunto de informações sobre as carcaças condenadas acompanhou cada amostra colhida e as propriedades de origem desses animais foram rastreadas e nelas foi aplicado um questionário. A análise dos resultados permitiu concluir que a tuberculose bovina no Estado de São Paulo está mais concentrada em rebanhos de leite com algum grau de tecnificação da produção e que acomete preferencialmente fêmeas leiteiras de raças europeias com idade superior a 36 meses. Além disso, as propriedades foco de tuberculose praticam a introdução e a venda de animais aparentemente sem a realização de testes tuberculínicos, contribuindo para a disseminação da doença.

PALAVRAS-CHAVE: Tuberculose bovina, abatedouro, perfil dos animais, perfil dos focos, São Paulo, Brasil.

ABSTRACT

EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF THE BOVINE TUBERCULOSIS CONDEMNATIONS IN ABATTOIRS IN THE STATE OF SÃO PAULO, BRAZIL. Analyzing data and samples collected at abattoirs in the state of São Paulo, Brazil, the present study provided a profile of the tuberculosis condemned bovine and characterized their herds. From May/2002 to January/2004, tuberculosis lesions from 587 animals were sampled in 79 abattoirs, and from these samples a total of 253 *Mycobacterium bovis* isolates were obtained. The herds of these animals were tracked down and an epidemiological questionnaire was applied. A dataset about the condemned carcasses was attached to each sample. The data analyses showed that bovine tuberculosis in São Paulo state is concentrated in dairy herds with some sophistication of the production system and mostly affects dairy cows of European breeds older than 36 months. Moreover, the owners of infected herds sell animals without testing them for tuberculosis, contributing to the spread of the disease.

KEY WORDS: Bovine tuberculosis, abattoirs, animal profile, herd profile, São Paulo state, Brazil.

INTRODUÇÃO

A tuberculose bovina, causada pelo *Mycobacterium bovis*, além de ser uma importante zoonose, também causa perdas econômicas na produção de carne e leite (ACHA; SZYFRES, 2003). É uma importante doença nas Américas, principalmente na América Latina, e sua presença no rebanho é um empecilho para a produção e a comercialização de bovinos e seus produtos (USABIAGA, 2001).

Na maioria das vezes, a tuberculose tem um curso crônico e acomete apenas o pulmão, pois a principal forma de transmissão é a inalação de

aerossóis infecciosos. Na maioria das vezes o processo é clinicamente inaparente por muito tempo e alguns animais, embora eliminem o agente para o ambiente, transcorrem as suas vidas produtivas sem sintomatologia evidente. Os animais sintomáticos geralmente desenvolvem sinais respiratórios e perda de peso progressiva, resultando em diminuição da produção de carne e leite (ACHA; SZYFRES, 2003).

Por ser zoonose e causar prejuízos econômicos, vários países desenvolvem programas de controle erradicação da tuberculose bovina. O Brasil iniciou o combate à doença de forma mais organizada em 2001, com o lançamento do Programa Nacional de

Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT), que tem a certificação de propriedades livres e a necessidade de testar animais para trânsito como principais estratégias de combate à tuberculose (BRASIL *et al.*, 2006).

Embora seja importante conhecer a situação da doença no início do programa, a situação epidemiológica da tuberculose bovina no Brasil ainda não está adequadamente caracterizada. Os dados de notificações oficiais indicam uma prevalência média nacional de 1,3% de animais infectados, no período de 1989 a 1998 (BRASIL, 2001). Esse dado é pouco consistente, pois não é oriundo de amostra planejada. Existe apenas um estudo de grande dimensão, bem planejado e executado, realizado recentemente no país. Foi conduzido em Minas Gerais, em 1999, em sete regiões do sul do Estado, envolvendo aproximadamente 1.600 propriedades e 23.000 animais. Esse estudo estimou a prevalência de animais infectados em 0,8% e a de focos em 5%, sendo importante destacar que esse último valor subiu para 15% no universo de propriedades produtoras de leite com algum grau de mecanização da ordenha e de técnica da produção (BELCHIOR, 2000).

Assim, como a caracterização da tuberculose bovina no Brasil é muito precária, porém essencial para escolher as melhores estratégias e verificar a eficácia das medidas de combate implementadas, o presente estudo teve por objetivo estudar o perfil dos animais infectados por *M. bovis* no Estado de São Paulo e caracterizar as propriedades foco de tuberculose através de informações geradas a partir de abatedouros.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi estruturada uma ação organizada entre o Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (VPS-FMVZ-USP), a Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo (CDA) e o Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SIF-MAPA).

Durante o período de maio de 2002 a janeiro de 2004, 79 abatedouros bovinos do Estado de São Paulo participaram do esforço de coleta das amostras, sendo 33 da rede SIF e 42 da rede SISF (Serviço de Inspeção do Estado de São Paulo). Neste período, foi colhida uma amostra da lesão granulomatosa de todas as carcaças condenadas por tuberculose durante a rotina de inspeção. Os fragmentos de tecido coletados foram imersos em frascos individuais contendo solução saturada de borato de sódio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) (RICHARDS; WRIGHT, 1983; HERNANDES DE ANDA, *et al.*, 1997).

Para cada amostra coletada, foi preenchida uma guia acompanhatória, na qual constaram informações sobre o abatedouro (Número de registro no SIF/SISP, Nome do estabelecimento, médico veterinário encarregado e contato), sobre o trajeto do animal (Número e local de emissão da GTA), sobre a propriedade de origem (Nome do proprietário, nome e endereço do estabelecimento e se o animal é de criação própria ou não) e sobre as características do animal, como espécie, sexo, raça, idade e distribuição das lesões granulomatosas na carcaça.

Os frascos contendo as amostras e as respectivas guias acompanhatórias foram encaminhados para o Laboratório de Zoonoses Bacterianas (LZB) do VPS-FMVZ-USP, onde as amostras foram processadas visando o isolamento de micobactérias. Desde a coleta até o processamento não foi excedido o prazo de dois meses. Cada amostra foi macerada em *stomacher*, descontaminada pelo método de Petroff, semeada em meios de Lowenstein-Jensen e Stonebrink-Lesslie (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS, 1973) e incubada a 37° C por até 90 dias. As colônias com características sugestivas de micobactérias foram fixadas em lâmina de vidro e coradas pelo método de Ziehl-Nielsen (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS, 1972) para pesquisa de BAAR. As amostras que não apresentaram crescimento de BAAR foram submetidas à nova tentativa de isolamento de micobactérias, utilizando-se como método de descontaminação o HPC 1,5% (CORNER; TRAJSTAMAN, 1988; AMBROSIO, 2005). De todas as amostras BAAR positivas foi extraído o DNA (VAN SOOLINGEN *et al.*, 1994), que foi submetido à identificação pelos métodos de PCR-PRA (TELENTI *et al.*, 1993) e *spoligotyping* (HERMANS *et al.*, 1991). O PCR-PRA baseia-se na amplificação de um fragmento de 383 bp, comum a todas as micobactérias, do gene da proteína de choque térmico de 65 kDa. Esse fragmento é polimórfico e, através da sua digestão pelas enzimas Bst E II e Hae III, é possível identificar a espécie da micobactéria. O *spoligotyping* é baseado no polimorfismo de DNA presente em um locus cromossomal particular, a região de repetição direta-*Direct Repeat* (DR)-presente apenas nas bactérias do Complexo *M. tuberculosis*. A presença ou ausência na região DR de espaçadores de sequência conhecida pode ser detectada realizando um PCR deste material e posterior hibridação com um jogo de oligonucleotídeos imobilizados, representando cada um uma sequência específica de cada espaçador.

As unidades de criação foram rastreadas com base nos dados coletados pela guia acompanhatória. Essas propriedades foram visitadas e nelas foi aplicado um questionário epidemiológico, com informações sobre o tipo de exploração (corte, leite ou mista), o número de ordenhas por dia, o tipo de ordenha (manual, mecânica ao pé ou mecânica em sala de ordenha), número de bovinos da propriedade e hábitos de compra e venda de animais.

Todos os dados das guias acompanhatórias, do isolamento e da identificação do agente e dos questionários epidemiológicos foram armazenados em uma base de dados desenvolvida especificamente para o projeto.

Com o objetivo de se caracterizar o perfil dos bovinos condenados por tuberculose no Estado de São Paulo e suas propriedades de origem, foram construídas simples tabelas e gráficos de frequência e calculados os Valores Preditivos Positivos (VPP) (THRUSFIELD, 1995) para as variáveis analisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras recebidas pelo LZB, apenas uma não proveio de frigorífico. Portanto, só não foi possível incluí-la no cálculo dos VPP do diagnóstico realizado pelo SIF e SISP.

Tabela 1 - Valores preditivos positivos (VPP) do diagnóstico realizado pelos inspetores de carnes bovinas do Serviço de Inspeção Federal do Estado de São Paulo e do Serviço de Inspeção Estadual de São Paulo.

Serviço de inspeção de carnes	SIF	SISP
Número amostras coletadas	441	145
Número amostras processadas	441	145
Número de isolados de <i>M. Bovis</i>	157	95
VPP	0,36	0,66

Foi isolado *M. bovis* de 253 amostras das 587 processadas. Foram rastreadas 239 propriedades, sendo que 110 delas foram classificadas como foco bacteriológico de tuberculose. Nas 129 propriedades restantes não foi isolado o *M. bovis* de lesões dos animais condenados por tuberculose ao abate.

Inicialmente foram calculados os VPP para as redes de inspeção SIF e SISP (Tabela 1), que indicam que, na rede SISP, de cada 100 animais condenados por tuberculose, 66 deles estão realmente infectados, enquanto na rede SIF esse valor foi de apenas 36. Considerando que o VPP do teste diminui sempre que a prevalência real da doença decresce, essa diferença entre SIF e SISP se justifica, pois na rede SIF a expectativa da prevalência real da tuberculose é baixa, visto que abate quase exclusivamente gado de corte, de criação extensiva, onde a tuberculose não se transmite com facilidade. Cenário oposto ocorre na rede SISP, que abate os descartes das pequenas propriedades de aptidão leiteira ou mista, onde a expectativa de prevalência da tuberculose é maior. Portanto, essa diferença de VPP entre SIF e SISP está associada à prevalência da doença nos dois serviços de inspeção e não à qualidade da inspeção realizada. Em Minas Gerais, já foi verificada a maior concentração da doença em propriedades leiteiras (BELCHIOR, 2000).

Tabela 2 - Distribuição das lesões nas carcaças dos animais infectados pelo *M. bovis* abatidos no Estado de São Paulo.

Local da lesão	Nº de animais	%
Trato respiratório	166	65,61
Trato digestivo	99	39,13
Linfonodos da cabeça e pescoço	79	31,23
Genito urinário	2	0,79
Úbere	3	1,19
Outros	30	11,86

Para se verificar as localizações preferenciais das lesões tuberculosas nas carcaças dos bovinos, foram elaboradas a Tabela 2 e as Figuras 1 e 2.

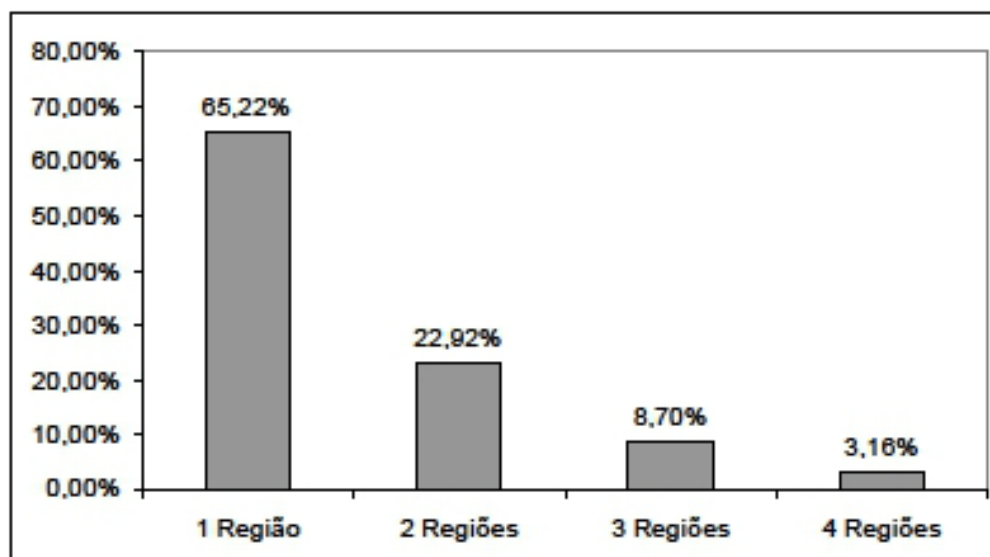


Fig. 1 - Animais infectados pelo *M. bovis*, segundo o número de regiões ou sistemas com lesões.

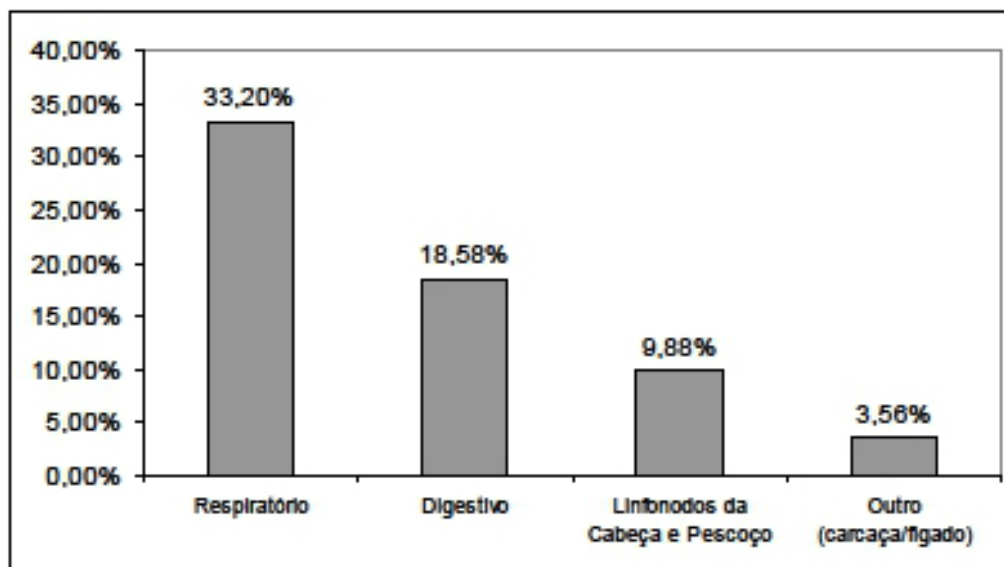


Fig. 2 - Localização dos granulomas nos animais que apresentam lesões em apenas uma região ou sistema.

Importante ressaltar que a Tabela 2 não eliminou as redundâncias, ou seja, animais que apresentaram lesões em duas regiões da carcaça foram computados duas vezes. Nos 253 animais infectados pelo *M. bovis*, embora a maioria (65,22%) tenha apresentado lesões em uma única região ou sistema, houve aqueles com acometimento de até 4 sistemas (Fig. 1).

A Figura 2 traz as localizações das lesões nos animais com apenas uma região ou sistema acometido e mostra que as principais portas de entrada do agente nos bovinos são o trato respiratório e digestivo. Destaque-se a alta frequência de lesões sistema digestivo, sugerindo que essa porta de

entrada é muito importante na transmissão da tuberculose no Estado de São Paulo, provavelmente resultado do aleitamento de bezerros com leite de vacas infectadas.

Quanto ao acometimento do úbere, os resultados encontrados não diferem da literatura, visto que ACHA; SZYFRES (2003) relataram que cerca de 1 a 2% das vacas com sintomas de tuberculose apresentavam mastite tuberculosa. Esses mesmos autores salientam que esta forma clínica é importante não apenas do ponto de vista de saúde pública como também como fonte de infecção para os bezerros que se amamentam com o leite dessas vacas.

Tabela 3 - Características dos animais condenados em matadouro por tuberculose no Estado de São Paulo, segundo o isolamento de *M. bovis*.

Características	Isolamento de <i>Mycobacterium bovis</i>				VPP* (%)
	Positivo	%	Negativo	%	
Sexo					
Sem identificação	8	3,16	19	5,69	-
Macho	96	37,94	165	49,40	36,78
Fêmea	149	58,89	150	44,91	49,83
Subtotal	253		334		
Raça					
Sem identificação	5	1,98	17	5,09	-
Zebu de corte	73	28,85	130	38,92	35,96
Europeu de leite	29	11,46	9	2,69	76,32
Europeu de corte	8	3,16	5	1,50	61,54
Sem raça definida	114	45,06	119	35,63	48,93
Outras	24	9,49	54	16,17	30,77
Subtotal	253		334		
Idade					
Sem identificação	3	1,19	11	3,29	-
0 a 12 meses	0	0,00	0	0,00	-
12 a 24 meses	12	4,74	19	5,69	38,71
24 a 36 meses	78	30,83	110	32,93	41,49
> 36 meses	160	63,24	194	58,08	45,20
Subtotal	253		334		

*Valor Preditivo Positivo

Para se conhecer o perfil dos animais condenados por tuberculose foi elaborada a Tabela 3.

Em números absolutos, a Tabela 3 indica que os bovinos tuberculosos do Estado de São Paulo são preferencialmente fêmeas, sem raça definida e com idade superior a 36 meses. Vale lembrar que fêmeas têm uma vida produtiva mais longa. De fato, ACHA; SZYFRES (2003) referem que a enfermidade é mais frequente em animais de idade avançada, devido ao seu caráter crônico e ao aumento da probabilidade de exposição com o passar do tempo.

Apesar do exame de uma única lesão coletada não ser o critério ideal de classificação do estado sanitário de um animal, os VPP apresentam-se consistentes com a epidemiologia da doença, tendo sido mais elevados para fêmeas de raças leiteiras europeias com mais de 36 meses, indicando que a prevalência real da doença é mais elevada em animais com essas características. Esse fato também era esperado, visto que a prevalência da infecção é mais alta em vacas leiteiras do que em animais de corte, pois a aglomeração de animais é mais frequente nas explorações de leite (BELCHIOR, 2000; ACHA; SZYFRES, 2003).

Para se conhecer o perfil dos rebanhos de origem dos animais condenados por tuberculose em abatedouro foi elaborada a Tabela 4.

Em números absolutos, os animais infectados provêm preferencialmente de rebanhos tipo corte, seguidos dos mistos e, em menor número, de rebanhos tipo leite (Tabela 4). Esse dado deve ser analisado com muito cuidado, pois o sistema de revelação

de focos apoiou-se no abatedouro, onde o volume de animais de corte é muito superior ao de leite. De fato, os VPP da Tabela 4 indicam que a tuberculose concentrou-se principalmente em rebanhos do tipo leite e misto. Assim, embora a maioria dos animais infectados detectados em matadouro seja procedente de rebanhos de corte, a prevalência da tuberculose no Estado de São Paulo é maior em rebanhos do tipo leite e misto.

A Tabela 4 também mostra que as propriedades foco introduzem animais preferencialmente comprando-os diretamente de outras fazendas ou de comerciantes de gado, sendo que esses últimos são reconhecidos como grandes difusores de doença. Essa mesma Tabela também mostra que essas propriedades vendem animais preferencialmente para comerciantes ou diretamente para outras fazendas. Concluindo, a comercialização tanto para introdução quanto para saída de animais de propriedades foco é feita de maneira aparentemente desprovida de cuidados sanitários, ampliando o risco de disseminação da doença.

Para se investigar a importância do grau de tecnificação das propriedades leiteiras na concentração da doença foi elaborada a Tabela 5.

Os VPP da Tabela 5 sugerem que existe uma tendência da tuberculose concentrar-se em rebanhos que realizam duas ou mais ordenhas por dia e que utilizam ordenhadeira mecânica, ou seja, propriedades de leite com algum grau de tecnificação. Resultado semelhante foi encontrado por BELCHIOR (2000) em Minas Gerais.

Tabela 4 - Perfil das propriedades que apresentaram animais condenados por tuberculose em abatedouros do Estado de São Paulo, segundo isolamento de *Mycobacterium bovis*.

Características	Isolamento de <i>Mycobacterium bovis</i>				
	Positivo	%	Negativo	%	VPP*(%)
Tipo de exploração					
Corte	57	51,82	90	69,77	38,78
Leite	11	10,00	4	3,10	73,33
Misto	42	38,18	35	27,13	54,55
Número de bovinos na propriedade					
Até 20	7	6,4	6	4,7	53,8
21 a 100	29	26,4	31	24,0	48,3
Mais de 100	74	67,3	92	71,3	44,6
Como compra animais?					
Em exposição	1	0,91	3	2,33	25,00
Em leilão	29	26,36	39	30,23	42,65
De comerciante de gado	31	28,18	23	17,83	57,41
Diretamente de outras fazendas	74	67,27	80	62,02	48,05
Como vende animais?					
Em exposição	0	0,00	0	0,00	-
Em leilão	12	10,91	20	15,50	37,50
Para comerciante de gado	25	22,73	13	10,08	65,79
Diretamente para outras fazendas	21	19,09	29	22,48	42,00

*Valor Preditivo Positivo

Tabela 5 - Perfil das propriedades que realizam ordenha (tipo leite e misto), segundo isolamento de *M. bovis*.

Características	Isolamento de <i>Mycobacterium bovis</i>				
	Positivo	%	Negativo	%	VPP*(%)
Número de ordenhas					
Uma	38	74,5	38	80,9	50,00
2 ou 3	13	25,5	9	19,1	59,09
Tipo de ordenha					
Manual	36	70,6	38	80,9	48,65
Mecânica ao pé	11	21,6	6	12,8	64,71
Mecânica sala	4	7,8	3	6,4	57,14

*Valor Preditivo Positivo

Portanto, esses dados mostram que a tuberculose bovina em São Paulo está mais concentrada em rebanhos de leite com algum grau de tecnificação da produção e que acomete preferencialmente fêmeas leiteiras de raças europeias com idade superior a 36 meses. Além disso, as propriedades foco de tuberculose praticam a introdução e a venda de animais aparentemente sem a realização de testes tuberculínicos, contribuindo para a disseminação da doença. Assim, em relação à tuberculose bovina, a gestão do PNCEBT no Estado de São Paulo deve dar ênfase à cadeia produtiva de leite, com foco especial nas propriedades tecnificadas e desenvolver ações de educação sanitária para mitigar o risco de introdução da doença através da aquisição de animais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo (CDA), ao Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SIF - MAPA), ao CNPq pela concessão de bolsa de estudos e à FAPESP pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. Volumen 1: bacteriosis y micosis. Organización Panamericana de La Salud. 3 ed. Washington, 2003. (Publicación Científica, 580).

AMBROSIO, S.R. *Métodos bacteriológicos aplicados à tuberculose bovina: comparação de três métodos de descontaminação e de três protocolos para criopreservação de isolados*. 2005. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina

Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

BELCHIOR, A.P.C. *Prevalência, distribuição regional e fatores de risco da tuberculose bovina em Minas Gerais*. 2000. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT): Manual técnico*. Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2006. 184p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT)*. 2001. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acessado em: 20 ago. 2008.

CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. *Diagnóstico de laboratório de la tuberculosis animal*. Buenos Aires: CPZ, 1972. 48p. (Nota técnica, 26).

CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. *Métodos de laboratório de micobacteriología veterinária para el aislamiento e identificación de micobacterias*. Buenos Aires: CPZ, 1973. 48p. (Série de monografias científicas y técnicas, 6).

CORNER, L.A.; TRAJSTAMAN, A.C. An evaluation of 1-hexadecylpyridinium chloride as a decontaminant in the primary isolation of *Mycobacterium bovis* from bovine lesions. *Veterinary Microbiology*, v.18, n.2, p.127-134, 1988.

HERMANS, P.W.M.; van SOOLINGEN, D.; BIK, E.M.; HAAS, P.E.W. de; DALE, J.W.; van EMBDEN, J.D.A. The insertion element IS 987 from *M. bovis* BCG is located in a hot spot integration region for insertion elements in *M. tuberculosis* Complex strains. *Infection and Immunity*, v.59, p.2695-705, 1991.

HERNANDES DE ANDA, J.; EVANGELISTA, T.R.; VALEN-
LENCIA, G.L.; HODGERS, M.M. An abattoir monitor-
ing system for diagnosis of tuberculosis in cattle in Baja
California, México. *Journal of the American Veterinary
Medical Association*, v.211, n.6, p.709-711, 1997. Errata:
v.211, n.12, p.1576, 1997.

RICHARDS, W.D.; WRIGHT, H.S. Preservation of tis-
sue specimens during transport to mycobacteriology
laboratories. *Journal of Clinical Microbiology*, v.17, n.3,
p.393-395, 1983.

TELENTI, A.; MARCHESI, F.; BALZ, M.; BALLY, F.;
BÖTTGER, T. Rapid identification of Mycobacteria
to the species level by polymerase chain reaction and
restriction enzyme analysis. *Journal of Clinical
Microbiology*, v.31, n.2, p.175-178, 1993.

THRUSFIELD, M. *Veterinary Epidemiology*. Oxford:
Blackwell Science, 1995. 479p.

USABIAGA, J. Brucellosis and bovine tuberculosis:
control or elimination? In: INTER-AMERICAN
MEETING, AT THE MINISTERIAL LEVEL, ON
HEALTH AND AGRICULTURE, 12., 2001, São Paulo,
Brazil. *Proceedings*. São Paulo: PHO, 2001.

van SOOLINGEN, D.; de HAAS, P. E. W.; HERMANS,
P.W.M.; van EMBDEN, J.D.A. DNA fingerprinting of
Mycobacterium tuberculosis. *Methods in Enzymology*,
v.235, p.196-205, 1994.

Recebido em 7/7/10

Aceito em 25/4/11