

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE RESPOSTA À TUBERCULINIZAÇÃO EM OVINOS

Comparative evaluation response in sheep tuberculinization

Eduarda Pereira Andrade¹, Carolina Covre¹, Renato Travassos Beltrame², Fernando Luiz Tobias³

¹Médica Veterinária - Centro Universitário do Espírito Santo – UNESC; ²Médico Veterinário, doutor em Ciência Animal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), professor do curso de medicina veterinária do Centro Universitário do Espírito Santo (UNESC), Colatina, ES – Brasil; ³Médico Veterinário, doutor em Ciência Animal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), professor do curso de medicina veterinária da universidade de vila velha (UVV), Vila Velha, ES – Brasil.

RESUMO

Na espécie ovina são escassos estudos que indiquem o melhor local para inoculação do derivado proteico purificado PPD bovino e PPD aviário. Objetivou-se verificar se o local de inoculação influencia na utilização de valores de referência. Realizou-se a tuberculinização intradérmica cervical comparativa alternando-se o local de inoculação. Inicialmente, foram testados na região cervical de 49 ovinos adultos da raça Santa Inês. Após 90 dias, 27 dos animais testados e considerados negativos foram direcionados para o mesmo teste na região dorsal do membro pélvico. Inoculou-se 0,1 ml de PPD aviária (0,5mg/ml) cranialmente e 0,1 ml de PPD bovina (1mg/ml) caudalmente distantes entre si em 7 cm utilizando-se pistolas tuberculínicas calibradas. A espessura da dobra da pele foi medida por cutímetro com empunhadura de mola e relógio em aço anterior à aplicação das PPDs e decorridos 72 horas. Os valores da espessura de pele foram comparados pelo teste t ($p < 0,05$). Todos os animais foram considerados negativos. Antes da inoculação da PPD aviária identificou-se que a região cervical apresentava pele mais espessa que a região pélvica. Após as 72 horas não houve diferença na espessura de pele entre os grupos, porém, ocorreu reação de hipersensibilidade local. Na leitura do tempo 0, os grupos apresentaram diferença estatística na espessura de pele. Não houve diferenças na espessura de pele entre as duas áreas, sugerindo que os valores de referência podem ser empregados ao teste de tuberculinização em ambos os locais sem influenciar o resultado final.

Palavras chave: alérgico teste, tuberculose, zoonose.

ABSTRACT

There are few studies in sheep indicating the best site for inoculation against bovine and avian PPD. Our aim was to determine whether the site of inoculation influenced the use of reference values. We compared the effects of cervical intradermal tuberculin inoculation at two sites. Initially we tested 49 adult sheep of the Santa Inês

breed, directed for testing in the cervical region. After 90 days, 27 animals previously tested and found negative, were tested again using the same test, but administered in the dorsal region of the pelvic limb. The test involved injecting 0.1 ml of Avian PPD (0.5mg / ml) cranially and 0.1 ml of Bovine PPD (0.5mg/kg) caudally, at sites separated by a distance of 7cm, using tuberculin guns. Skin fold thickness was measured by calipers for TB examinations with grip spring and watch in stainless steel prior to the application of PPDs and after 72 hours. The skin thickness values were compared using the *t* test ($p < 0.05$). All animals were considered negative. Before injection of avian PPD we determined that skin was thicker at the neck than the pelvic region. After 72 hours there was no group difference in skin thickness, although there was a local, exacerbated hypersensitivity reaction. Reading the time 0, groups showed statistically significant differences in skin thickness. There were no differences in skin thickness between the two sites, suggesting that the reference values may be employed in tuberculin testing at both the sites we tested without affecting the final result.

Keywords: alergotest, tuberculosis, zoonosis.

INTRODUÇÃO

A tuberculose é uma doença infectocontagiosa causada por *Mycobacterium* ssp. Nos animais leva a um quadro clínico de alta gravidade e perdas econômicas com a diminuição na produtividade, descarte dos animais positivos, eliminação de leite contaminado e descarte de carcaças (RADOSTITS, 2002).

Outro ponto agravante é o fato de se tratar de uma zoonose. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, em 2015 foram notificados 6,4 milhões de casos de tuberculose (WHO, 2016). Portanto, é de suma importância conscientizar a população a respeito desta patologia, e introduzir métodos de prevenção e controle no manejo dos animais, a fim de controlar a incidência de animais infectados.

No Brasil, é função da Defesa Sanitária Animal prevenir, combater, controlar, erradicar e sacrificar animais infectados por alguma doença zoonótica. A tuberculose é diagnosticada por meio de avaliação com alergoteste da tuberculina (BRASIL, 2006; BRASIL, 2009).

Pesquisas sobre o teste de tuberculina como diagnóstico de tuberculose já foram descritas em bovinos (ALMEIDA *et al.*, 2006; FRÁGUAS *et al.*, 2008; SOUZA, 2013), búfalos (CASSEB *et al.*, 2015), caprinos (PIGNATA *et al.*, 2009; CORRÊA *et al.*, 2011), suínos (MORÉS *et al.*, 2006), ovinos (CYRILLO, 2006; CYRILLO *et al.*, 2007; CARVALHO *et al.*, 2011; YURI *et al.*, 2012) e animais silvestres (ABDALA *et al.*, 2015), porém nas mais diversas condições higiênico-sanitárias de propriedades.

O Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA), através da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA), instituiu o Programa Nacional de Sanidade de caprinos e Ovinos (PNESCO) que possui o objetivo de controle e erradicação de doenças através das ações sanitárias e de vigilância epidemiológica, porém, o programa não descreve medidas específicas para o diagnóstico e controle da tuberculose nestas espécies (BRASIL, 2009).

O diagnóstico de tuberculose a campo em ovinos é possível através das provas disponíveis para a espécie bovina. Destacam-se: 1) Teste cervical simples, que é uma prova de rotina, usado em bovinos leiteiros e que possui boa sensibilidade; 2) Teste cervical comparativo, que é uma prova confirmatória para animais reagentes ao Teste cervical simples (BRASIL, 2006).

Além da não padronização do diagnóstico, os poucos relatos sobre a tuberculose causada por *M. bovis* em caprinos e ovinos no Brasil podem ter relação com falhas de diagnóstico, devido a alta incidência de linfadenite caseosa (*Corynebacterium pseudotuberculosis*) que apresenta lesões macroscópicas semelhantes às da tuberculose (CYRILLO, 2006; SILVA *et al.*, 2006).

O diagnóstico da tuberculose bovina é realizado através de testes imunoalérgicos que são difundidos e aceitos em nível mundial, porém são escassos para os pequenos ruminantes (caprinos e ovinos) estudos que indiquem o melhor local para inoculação do derivado proteico purificado (PPD) e acuidade dos valores de referência padronizados para estas espécies. Daí a necessidade de estudos comparativos acerca da tuberculina em ovinos, pois ainda não há padrões de leitura do teste oficialmente estabelecido para os caprinos e ovinos (CYRILLO, 2006; SILVA *et al.*, 2006).

Diante do descrito acima, este trabalho teve como objetivo, verificar se os valores de referência usados para leitura do teste de tuberculina na região cervical, (Cyrillo *et al.*, 2007), poderiam ser utilizados de forma segura para leitura da inoculação na região dorsal do membro pélvico.

MATERIAL E MÉTODOS

Em acordo com as principais resoluções que regulamentam a realização de pesquisa e experimentação animal no país, o projeto em questão foi enviado para

apreciação ética na Comissão de Ética do UNESC, tendo sido aprovado pelo parecer consubstanciado de número 238273. As atividades de campo somente foram iniciadas após aprovação e emissão desse parecer.

O presente estudo foi desenvolvido no aprisco do Centro Universitário do Espírito Santo (UNESC), localizado em Colatina - ES. Quarenta e nove ovinos adultos da raça santa Inês foram direcionados para a realização do teste de tuberculina cervical comparativo na região cervical (G1). Após 90 dias, 27 dos animais previamente testados e considerados negativos foram direcionados para o mesmo exame, que foi realizado na região dorsal do membro pélvico (G2). Ambos os testes foram realizados do lado esquerdo do animal.

Foi inoculado 0,1 ml de tuberculina aviária (0,5mg/ml) e 0,1 ml de tuberculina bovina (1mg/ml). A tuberculina aviária foi inoculada cranialmente e a bovina caudalmente, em dois pontos distantes entre si em +/- 7 cm, utilizando-se pistolas tuberculínicas calibradas de marca (Maclintock[®]). A espessura da dobra da pele foi medida por cutímetro com empunhadura de mola e relógio em aço inox de marca (Hauptner[®]) no momento imediatamente anterior a aplicação das tuberculinas e decorridos 72 horas. A determinação de animais positivos negativos ou com suspeita de estarem infectados basearam-se no que foi demonstrado por Cyrillo *et al.* (2007), que realizaram os testes na região cervical.

Para a realização da leitura das PPDs, foi utilizado o tempo definido pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose bovina que é de 72 horas após a inoculação.

Foram comparados os valores obtidos da espessura da pele no momento inicial e após 72h dentro dos grupos e entre os grupos G1 e G2, no intuito de avaliar se os valores de referência apresentados poderiam ser utilizados de forma segura nos dois locais de inoculação.

Estatisticamente, as médias obtidas foram comparadas pelo teste t de student (SAS Inst., Inc., Cary, NC).

RESULTADOS

Durante a realização do estudo os ovinos utilizados não apresentaram alterações clínicas perceptíveis, a não ser aumento da espessura do local de

inoculação da tuberculina. Não foi observado prurido nem tentativa de acesso à região posterior pelos animais.

No momento da leitura não se verificou eritema, exsudato ou qualquer outro tipo de lesão como necrose tecidual no local de inoculação das PPDs. A palpação do local de inoculação foi realizada na intenção de detectar resposta dolorosa dos animais, entretanto não houve respostas aos estímulos.

Ao se efetuar a leitura da espessura de pele dos animais, antes da inoculação da PPD aviária, foi identificado que o G1 – região cervical apresentava a pele mais espessa do que o G2 – região pélvica dorsal. Após as 72 horas o G1 não apresentou diferença na espessura de pele em relação ao G2 (Tabela 1).

Tabela 01: Média da espessura de pele em milímetros (mm) do local de inoculação da PPD aviária nos grupos G1 e G2 no momento de leitura 0 hora e 72 horas após inoculação.

Tuberculina Aviária			
Grupo	0 hora	72 horas	Nº. de Animais
G1 – Região Cervical	4,35 ^{Aa} ± 0,72	7,73 ^{Ab} ± 1,81	49
G2 – Região Pélvica Dorsal	3,50 ^{Ba} ± 0,50	7,16 ^{Ab} ± 1,44	27

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente entre si ($P < 0,05$) pelo teste t.

Na leitura da hora 0, antes da inoculação da PPD bovina, os grupos apresentaram diferença ($p < 0,05$) na espessura de pele, porém, após as 72 horas da aplicação da PPD bovina, não foi evidenciada diferença ($p > 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 02: Média da espessura de pele em milímetros (mm) do local de inoculação da PPD bovina nos grupos G1 e G2 no momento de leitura 0 hora e 72 horas após inoculação.

Tuberculina Bovina			
Grupo	0 hora	72 horas	Nº. de Animais
G1 – Região Cervical	4,40 ^{Aa} ± 0,93	6,50 ^{Ab} ± 1,49	49

G2 – Região Pélvica Dorsal	3,38 ^{Ba} ± 0,56	5,95 ^{Ab} ± 1,08	27
----------------------------	---------------------------	---------------------------	----

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente entre si ($P < 0,05$) pelo teste t.

Ao compararmos as diferenças das médias finais as 72 h das PPD aviária e bovina, constatou-se que não houve diferença estatística nos resultados entre o G1 - região cervical e o G2 - região dorsal do membro pélvico (Tabela 3).

Tabela 03: Resultado da diferença da média de espessura de pele em milímetros (mm) entre a PPD aviária e a bovina, de acordo com o local de inoculação, nos grupos G1 e G2.

Diferença em milímetros (mm) entre a PPD Aviária e Bovina		
Grupo	Resultado	Nº. de Animais
G1 – Região Cervical	- 1,26 ^a ± 1,40	49
G2 – Região Pélvica Dorsal	-1,09 ^a ± 0,82	27

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si ($P < 0,05$) pelo teste t.

DISCUSSÃO

O teste de tuberculina nos ovinos vem sendo usado há alguns anos baseado nas orientações de realização e interpretação determinadas para bovinos, tomando-se por base a inoculação na região cervical (CYRILLO, 2006).

Neste estudo não foram detectados animais positivos. Entretanto, em casos avançados de tuberculose, o indivíduo pode não apresentar a reação de hipersensibilidade esperada no teste cutâneo, e o diagnóstico será possível através da necropsia e inspeção de carcaças no momento do abate (RADOSTISTS *et al.*, 2002; SMITH, 2006).

Animais que foram infectados recentemente podem apresentar manifestações clínicas após 30 ou 50 dias. Ainda algumas variáveis podem influenciar a interpretação dos resultados positivo ou negativo, como animais em pré e pós-parto, idosos e animais desnutridos (RADOSTISTS *et al.*, 2002; SMITH, 2006).

Lopes *et al.* (2006), ao fazerem um estudo comparativo entre o teste de tuberculinização simples e o cervical comparativo em bubalinos, enfatizam a importância de padronização do teste para a espécie, e a elaboração de uma nova tabela de interpretação das reações alérgicas que permitiram a redução de casos de animais falso – positivos. Sugere ainda que o tempo de leitura e os locais de inoculação das tuberculinas também sejam revistos. Embora este trabalho tenha sido realizado na espécie ovina, os valores de referência utilizados foram frutos do estudo de Cyrillo *et al.* (2007), que trabalharam com animais de mesma espécie e raça.

Côrrea *et al.* (2011) avaliaram a resposta imunoalérgica em diferentes regiões corpóreas (cervical cranial, cervical caudal, torácica ventral, torácica dorsal, abdominal ventral, abdominal dorsal e prega da cauda) em caprinos negativos ao teste cervical comparativo, e constataram um aumento progressivo e constante na espessura da pele dos animais que foram inoculados nas regiões abdominal dorsal, torácica dorsal e cervical caudal.

As diferenças obtidas entre os tempos 0 e 72h neste trabalho (tabela 1 e 2) demonstraram o transcorrer da reação de hipersensibilidade induzida pela PPD aviária e bovina. A evidência desta sensibilidade nas regiões corpóreas, quando expostas ao teste de tuberculinização, também foram relatadas de forma similar por (CORRÊA *et al.*, 2011) e (YURI *et al.*, 2012).

A tuberculinização aviária apresentou uma reação exacerbada considerada como inespecífica. Notou-se a presença de aves no local onde os animais testados vivem, as quais podem ser acometidas pelo *Mycobacterium avium* e que pode estimular as reações inespecíficas que dificultam o diagnóstico da tuberculose em algumas situações. Lesões em pele ocasionadas no momento da tricotomia, e que possam interferir na reação inflamatória local, bem como contaminação no momento da inoculação, podem induzir tais respostas, independente do tipo de tuberculina inoculado.

A ausência de uma padronização para o teste de tuberculina em caprinos e ovinos fez com que pesquisadores adotassem a região cervical como local de inoculação das PPDs, generalizando os valores de referência obtidos para aplicação do teste em outros locais (CORRÊA *et al.*, 2011).

Neste trabalho, embora inicialmente tenham sido encontradas diferenças nos valores da espessura cutânea entre os dois locais testados (G1 x G2), a similaridade entre a diferença da média de espessura de pele, entre a PPD aviária e a bovina, evidencia a possibilidade de uso dos valores de referência da região cervical para a região pélvica dorsal.

Carvalho *et al.* (2011) exibiram a padronização de um teste alérgico para diagnóstico da tuberculose em ovinos a campo, sendo que a tuberculinização bovina apresentou em média 1,8mm (4,79mm – 3,00mm) e a aviária apresentou 2,4mm (5,14mm – 2,79mm) dados semelhantes a Silva *et al.* (2006). No trabalho, obteve-se resposta expressiva nos ovinos que foram sensibilizados ao *Mycobacterium bovis* e ao *Mycobacterium avium*, propondo que o teste cervical comparativo seja utilizado como método de diagnóstico a campo para os ovinos.

Yuri *et al.* (2012) elegeram a região torácica dorsal como o melhor local para a tuberculinização, seguida da cervical média e abdominal dorsal. Relatam ainda que as regiões de prega caudal e face interna da coxa em ovinos não são indicadas para realização da tuberculinização, e que não houve diferença estatística em relação à espessura de pele entre os diferentes locais de aplicação ou entre os lados direito ou esquerdo do animal. Resultados similares foram encontrados neste trabalho, comparando-se a região cervical e pélvica dorsal. Ainda, a região pélvica dorsal favoreceu a manipulação durante a execução do teste, por ser uma área de maior extensão, que permite melhor visualização do local de inoculação e que a espessura da pele não sofre interferência no momento de contenção dos animais.

O padrão estipulado pelo programa nacional de controle e erradicação da brucelose e tuberculose (PNCEBT), para a leitura de resultados a partir do teste cervical comparativo (TCC) em bovinos, apresenta medidas limites para a positividade superior à estabelecida para ovinos. A utilização da referência bovina ocasionaria uma falsa negatividade de ovinos para a tuberculose, não sendo recomendável o uso de valores de interpretação de bovinos ou caprinos para realização da tuberculinização em ovinos.

CONCLUSÃO

Em função da ausência de diferenças no momento da leitura, sugere-se que os locais testados não exercem influência no resultado do teste, podendo-se utilizar valores de referência similares.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro universitário do Espírito Santo – UNESC pela disponibilização dos animais, local e materiais utilizados durante o estudo. A todos os estudantes do curso de Medicina Veterinária que auxiliaram na coleta dos dados.

REFERÊNCIAS

ABDALA . A.; GARBACCIOB,S.; ZUMÁRRAGAB, M. ; TARABLA, H. D. *Mycobacterium bovis* en fauna silvestre de la cuenca lechera de Santa Fe, Argentina. **Revista Argentina Microbiologia**, Ciudad Autónoma de Buenos Aires. v. 47, n. 3, 2015.

ALMEIDA, R. F. C.; MADRUGA, C. R.; SOARES, C. O.; FERNANDES, M. C. ; CARVALHO, N. M.; JORGE, N. M.; OSÓRIO, A. L. A R. Resposta imune específica de bovinos experimentalmente sensibilizados com inóculos inativados de *Mycobacterium bovis* e *Mycobacterium avium*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 195-200, 2006.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa nacional de controle e erradicação de brucelose e tuberculose - PNCEBT**. Brasília: Departamento de Saúde Animal, Secretária de Defesa Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2006. 440 p.

BRASIL. **Manual de legislação**: programas nacionais de saúde animal do Brasil. Brasília: Departamento de Saúde Animal, Secretária de Defesa Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. 440 p.

CARVALHO, F. R. B.; SILVA JUNIOR, L. S.; LIMA, D. S.; SAMPAIO, M. P.; PEDROSO, P. O.; CERQUEIRA, R. B. Padronização de um teste alérgico para tuberculose em ovinos localizado na universidade federal do recôncavo da Bahia (UFRB). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, (CONBRAVET), 38., 2011, Florianópolis (SC). **Anais...** Florianópolis: Conbravet, 2011.

CASSEB, A. R.; NEGRÃO, A. G.; CASSEB, L. M. N.; SILVA, S. P.; RODRIGUES, É. D. L.; LIMA, W. F.; LANGONI, H. Comparação de três testes de tuberculina usados para o diagnóstico de tuberculose em búfalos de água na Ilha de Marajó. **Veterinária e Zootecnia**, v. 22, n. 2, p. 231-237, 2015.

CORRÊA, J. G. Z.; PINHEIRO, S. R.; MOTA, P. M. P. C.; SANT'ANNA - HENRIQUES, L. C.; NOGUEIRA, J. S.; BATISTA, C. F.; YURI, D. M. R. S.; BENESI, F. J. Influência da região corpórea no diagnóstico imunoalérgico da tuberculose caprina. **Veterinária e Zootecnia**, v. 18, n. 4, p. 680-687, 2011.

CYRILLO, F. C. **Padronização do alérgoteste da tuberculina em ovinos – ovis aries**. 2006. 92 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CYRILLO, F. C.; LEAL, M. L. do R.; MORENO, A.; MOTTA, P. M. P. C.; SINHORINI, I. L.; VASCONCELLOS, S. A.; PINHEIRO, S. R.; BENESI, F. J. Teste de tuberculinização em ovinos (*ovis aries*) experimentalmente sensibilizados. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 74, n. 3, p. 191-197, 2007.

FRÁGUAS, S. de A.; CUNHA-ABREU, M. S.; FERREIRA, A. M. dos R.; MARASSI, C. D.; OELEMANN, W.; FONSECA, L. de S.; FERREIRA, R.; LILENBAUM, W. Estudo comparativo de métodos complementares para o diagnóstico da tuberculose bovina em animais reagentes à tuberculinização. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 15, n. 3, p. 117-121, 2008.

LOPES, L. B.; CUNHA, A. P. da; MOTA, R. A.; LEITE, R. C. Comparação de duas técnicas de tuberculinização em búfalos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, n. 2, p. 187-191, 2006.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 87 da secretaria de Defesa Agropecuária, de 10 de dezembro de 2014**. Programa nacional de caprinos e ovinos (PNSCO). Brasília: PNSCO, 2014.

MORÉS, N.; AMARAL, A. L.; VENTURA, L.; SILVA, R. A. M.; SILVA, V. S.; BARIONI JUNIOR, W. Comparação entre métodos de tuberculinização no diagnóstico da infecção por agentes do complexo *Mycobacterium avium* ou *M. bovis* em suínos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 5, p. 708-717, 2006.

PIGNATA, W. A. ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S. de; DANTAS, A. F. M.; GOMES, A. A. de B.; REMÍGIO, F. R.; LIMA, F. da S.; MOTA, P. M. P. Prevalência pra tuberculose caprina no semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n. 29, v.7, p. 526-532, 2009.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C. **Clínica veterinária: um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.

SILVA, P. E. G.; PINHEIRO, S. R.; LEAL, M. L. do R.; BERTAGNON, H. G.; MOTTA, P. M. P. C.; SINHORINI, I. L.; VASCONCELLOS, S. A.; BENESI, F. J. Teste de tuberculinização em caprinos (*Capra hircus*) experimentalmente sensibilizados. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 880-886, 2006.

SMITH, B. P. **Medicina Interna de grandes animais**. 3. ed. Barueri, SP: Manole, 2006. 1728 p.

SOUZA, M. A. **Tuberculose bovina**: diagnóstico intradérmico e exames complementares em propriedade de exploração leiteira. 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia (MG), 2013.

WHO. World Health Organization. **Global Tuberculosis Report 2016**. 2016.

YURI, D. M. R. S. ; PINHEIRO, S. R.; ROXO, E.; MOTTA, P. M. P. C.; JORDÃO, R. S.; BENESI, F. J. Avaliação da região corpórea e dose da tuberculina no diagnóstico imunoalérgico em ovinos (*ovis aries*) experimentalmente sensibilizados com inóculo inativado de *mycobacterium bovis*. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 79, n. 3, p. 327-332, 2012.