

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
GRUPO DE PESQUISA INFECTOLOGIA E SAÚDE VETERINÁRIA  
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**SARA LOPES NASCIMENTO**

**BRUCELOSE MARINHA COM ÊNFASE EM CETÁCEOS  
Revisão de Literatura**

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA  
JULHO – 2022**

**SARA LOPES NASCIMENTO**

**BRUCELOSE MARINHA COM ÊNFASE EM CETÁCEOS**  
**Revisão de Literatura**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

Orientador: Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**  
**JULHO – 2022**

## FOLHA DE APROVAÇÃO

### BRUCELOSE MARINHA COM ÊNFASE EM CETÁCEOS Revisão de Literatura

**SARA LOPES NASCIMENTO**

**Orientador:** Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira

Aprovado como parte das exigências para a obtenção do Título de Bacharel em Medicina Veterinária, pela Banca Examinadora:



---

Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)  
Orientador



---

Profa. Sanderli S. Mascarenhas  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)  
Avaliador 1



---

Profa. Dra. Ana Karina da Silva Cavalcante  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)  
Avaliador 2

Data de Realização: 22 de Julho de 2022.

**Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador Dr. Robson Bahia Cerqueira por todo ensinamento, dedicação e ajuda.

Aos meus familiares por todo apoio durante esta longa jornada acadêmica.

Aos meus amigos por estarem sempre ao meu lado.

NASCIMENTO, Sara Lopes. **Brucelose marinha com ênfase em cetáceos (Revisão de literatura)**. Orientador: Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira. 2022. 39 f. TCC (Graduação) – Bacharelado em Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas. 2022.

## RESUMO

A brucelose é uma infecção bacteriana de distribuição mundial que acomete os mamíferos terrestres e aquáticos. A *Brucella ceti* é a cepa do gênero *Brucella spp.*, responsável por causar a infecção nos cetáceos. Com características específicas de resistência e multiplicação desta linhagem de patógeno, como a inativação da resposta fagolisossômica do sistema imune, são produzidas alterações patológicas sistêmicas nos mamíferos marinhos. A neurobrucelose é apresentada como alteração diferencial das cepas marinhas não só nos mamíferos aquáticos como também em infecções zoonóticas por cepas de *B. ceti*. Esta revisão aborda aspectos epidemiológicos, moleculares e patológicos induzidos por infecção de *B. ceti* em mamíferos aquáticos com ênfase nos cetáceos, trazendo relatos zoonóticos e infecções na costa brasileira.

**Palavras chaves:** *B.ceti*; mamíferos aquáticos, infecção

NASCIMENTO, Sara Lopes. **Marine brucellosis with emphasis on cetaceans (Literature review)**. Advisor: Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira. 2022. 39 f. TCC (Graduate) – Bachelor's Degree in Veterinary Medicine, Center for Agricultural, Environmental and Biological Sciences, Federal University of Recôncavo da Bahia

### **ABSTRACT**

Brucellosis is a bacterial infection of worldwide distribution that affects terrestrial and aquatic mammals. *Brucella ceti* is a strain of the genus *Brucella* spp. responsible for causing the infection in cetaceans. With specific characteristics of resistance and multiplication of this pathogen strain, such as the inactivation of the phagolysosomal response of the immune system, systemic pathological changes are produced in marine mammals. Neurobrucellosis is presented as a differential alteration of marine strains not only in aquatic mammals but also in zoonotic infections by strains of *B. ceti*. This review addresses epidemiological, molecular and pathological aspects induced by *B. ceti* infection in aquatic mammals with emphasis on cetaceans, bringing zoonotic reports and infections in the Brazilian coast.

**Keywords:** *B. ceti*; aquatic mammals, infection

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Características diferenciais cepas marinhas. ....	18
Figura 2. <i>Sotalia guianensis</i> encalhado morto, Santa Catarina. ....	19
Figura 3. Resposta imune a <i>Brucella spp.</i> .....	24
Figura 4. Achados patológicos .....	28
Figura 5. Golfinho listrado vivo ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) com neurobrucelose. ....	29
Figura 6. <i>Sotalia guianensis</i> macho com PCR positivo. ....	32

## LISTA DE ABREVIATÖES

- AhpC – Alquil hidroperoxido redutase
- APC – Células apresentadoras de antígeno
- BER – Reparo por excisão de base
- BvfA – Fator de virulência Brucella A
- CD – Células dendríticas
- CO<sup>2</sup> - Dióxido de carbono
- H<sup>2</sup>S - sulfeto de hidrogênio
- IFN – Interferon
- Ig – Imunoglobulina
- IL – Interleucina
- LPS – Lipopolissacarídeo
- MHC – Complexo de histocompatibilidade principal
- NK – Células Natural Killer
- NorD – Óxido nítrico redutase
- PAMPs – Padrões moleculares associados ao patógeno
- PCR – Reação em cadeia polimerase
- PRRs – Receptores de reconhecimento padrão
- RE – Retículo endoplasmático
- TLR – Receptores tipo toll
- TNF- Fator de necrose tumoral
- µm - Micrômetro

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO.....</b>	<b>13</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>14</b>
3.1	Identificação do agente e características morfofuncionais.....	14
3.2	Aspectos das diferentes espécies de <i>Brucella</i> spp. no ambiente marinho	15
3.3	Cetáceos.....	18
3.4	Aspectos epidemiológicos.....	20
3.5	Transmissibilidade (ambiente marinho) .....	20
3.6	Aspectos imune estimulado pela <i>Brucella ceti</i> .....	21
3.7	Patogênese nos cetáceos.....	24
3.8	Alterações patológicas.....	26
3.9	Diagnóstico clínico-epidemiológico e laboratorial .....	29
3.10	Descrição de brucelose marinha em cetáceos da costa brasileira .....	31
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>33</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>34</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A brucelose é uma zoonose infectocontagiosa crônica (Kerstens et al., 2006; Sola et al., 2014) endêmica em várias áreas do mundo (Sohn, et al., 2003) que afeta mamíferos, tanto terrestres quanto aquáticos (Jahans, K.L. et al., 1997; Foster, G. et al., 2007; Dawson, C. E. et al., 2008; Whatmore A.M. et al., 2017) causada pela *Brucella spp.* bactéria gram negativa, descrita em sua maioria como parasita intracelular facultativa, segundo Kersters, et al. (2006). seria melhor descrita como parasita intracelular facultativa, possuindo predileção pelo trato reprodutor do hospedeiro.

Descrita inicialmente em seis espécies diferenciadas através das seguintes três propriedades hospedeiro principal, fenótipo e genótipo (Sohn, A. H. et al., 2003; Foster, G. et al., 2007) *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis* e *B. neotomae*. Atualmente foram adicionadas quatro cepas, sendo elas, *B. microti*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis* e *B. inopinata* (Gomes, 2013; Sola et al., 2014).

Em 1994 foram iniciados os estudos de uma nova cepa isolada de mamíferos aquáticos (Ewalt et al., 1994; Ross et al., 1994; Foster et al., 1996; Garner et al., 1997; Forbes et al. 2000) em um feto abortado do golfinho nariz de garrafa (*Tursiops truncatus*) na califórnia (Ewalt et al., 1994). Conhecendo-se assim a *B. maris* (Jahans et al., 1997), capaz de infectar diferentes mamíferos aquáticos, que por sua vez determina a especiação taxonômica a partir do hospedeiro, como por exemplo *Brucella ceti* (Foster et al., 2007) e *Brucella pinnipedialis* (Foster et al., 2007).

Quatro casos de brucelose em humanos, por contaminação de cepas marinhas, já foram descritos. Brew et al., em 1999 descreve um caso de acidente em laboratório que cursou para uma infecção. Sohn et al. 2003 relatam 2 casos, de contaminação através da ingestão de mariscos frescos, na costa do Peru, que cursaram com neurobrucelose. O último caso relato foi por McDonald et al., 2006 que expõe um paciente com osteomielite, causada por uma cepa de *B. maris*, similar as descritas em focas e golfinhos.

O ambiente aquático tem grande importância para a saúde do planeta terra, a presença de bactérias anteriormente terrestres em animais topo de cadeia, como o exemplo do golfinho nariz de garrafa, gera uma enorme preocupação, visto que

indica uma evolução da bactéria, mudando o ambiente de instalação. A contaminação por humanos a partir de cepas de *Brucella spp.* decorrentes da vertente marinha, descritas nesta revisão, demonstra a necessidade do avanço nas pesquisas sobre este assunto (Van Bresse et al., 2009).

## 2 OBJETIVO

### 2.1 OBJETIVO GERAL

- Realizar uma revisão de literatura sobre a brucelose em cetáceos, enfatizando aspectos epidemiológicos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Pesquisar a importância da doença em cetáceos
- Abordar aspectos da brucelose em mamíferos marinhos

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Identificação do agente e características morfofuncionais

Microorganismos do gênero *Brucella*, cocobacilos gram-negativos, não formadores de esporos, não capsulados (CORBEL, 1997; PESSEGUIEIRO et al., 2003), imóveis, descrita como parasita intracelular facultativa, aeróbica ou microaerófila, algumas cepas exigem um complemento de 5 a 10% de CO<sub>2</sub>, aceitando uma temperatura ótima de 37°C (VERONESI et al., 2010) e pH ótimo entre 6,6 a 7,4 (SOLA et al., 2014).

São descritas 10 espécies do gênero *Brucella spp.* classificadas a partir das diferenças de patogenicidade, hospedeiro preferencial, características bioquímicas e antigênicas. As espécies e seus biovars são diferenciadas por meio de testes de sorotipagem, tipificação de fagos, requerimentos de CO<sub>2</sub>, sensibilidade a corantes, produção de H<sub>2</sub>S, além das propriedades metabólicas (ALTON et al., 1988; SOLA et al., 2014) e PCR (Reação em cadeia da polimerase). São elas *B. abortus* (observadas em bovinos e bubalinos), *B. melitensis* (cabras, ovelhas e camelos), *B. suis* (suínos e javalis), *B. canis* (cães), *B. ovis* (ovelha), *B. neotomae* (ratos), *B. microti* (ratazanas selvagens), *B. ceti* (cetáceos), *B. pinnipedialis* (pinípedes) e *B. inopinata*. (GOMES, 2013).

Essas espécies são divididas em dois grupos distintos pela antigenicidade. Sendo lisas ou rugosas, baseado nas características de multiplicação nos meios de cultura e na constituição da parede celular, presença ou ausência da cadeia O, componente do lipopolissacarídeo (LPS) localizada na superfície externa da *Brucella spp.*, tendo relação com a virulência de algumas espécies (CARDOSO et al., 2006). *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* e *B. neotomae*, *B. pinnipedialis*, *B. ceti*, *B. microti* e *B. inopinata* fazem parte das colônias lisas, que possuem o lipídeo A, oligossacarídeos e a cadeia O. Já a *B. canis* e *B. ovis*, são espécies que pertencem ao grupo das rugosas, que não apresentam a cadeia O (ALTON et al., 1988).

*Brucella spp.* é uma bactéria intracelular facultativa, que se apresenta isolada em sua maioria, porém pode ser vista em pares e raramente em grupos. Possui entre 0,6 a 1,5 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) e cerca de 0,5 a 0,7  $\mu\text{m}$  de diâmetro, com resistência a ácido fraco. A morfologia deste grupo é constante com raro pleomorfismo. São bactérias anaeróbias ou cianofílicas, possuindo crescimento ótimo em altas concentrações de dióxido de carbono. São catalase-positiva, oxidase-positiva, redutoras de nitrato em nitrito, urease-positiva (com exceção de algumas espécies), indol-negativas, negativas para liquefação de gelatina e não produtoras de ácido a partir de carboidratos em meios convencionais (SOUSA, 2019).

Possuem a parede celular composta por lipopolissacarídeos (LPS) que determinam a classificação entre lisas e rugosas deste grupo de bactérias. As colônias lisas possuem o conjunto de LPS completo, o lipídio A, o núcleo oligossacarídeo e uma cadeia O-polissacarídeos, sendo a presença desta última camada responsável pela determinação das estirpes como lisas ou rugosas. O conjunto de *Brucella spp.*, responsável pela infecção dos mamíferos marinhos possui a cadeia O-polissacarídeo sendo definida como uma estirpe lisa, assim como a *B. abortus*, cepa responsável por causar alterações patológicas nos bovinos (UENO et al. 2020).

Para a caracterização molecular das cepas de *Brucella* em geral é utilizada a identificação através do operon rRNA, particularmente o gene 16SrRNA. A presença do elemento genético móvel IS711 e sua distribuição no genoma bacteriano é utilizada para a caracterização das cepas, para as cepas de mamíferos marinhos ocorrem no mínimo 25 cópias do IS711, apresentando significativamente um número maior de cópias que as espécies clássicas, exceto a *B. ovis* (BRICKER et al., 2000).

### 3.2 Aspectos das diferentes espécies de *Brucella spp.* no ambiente marinho

Com a evolução nos estudos foi possível perceber que molecularmente as cepas isoladas de mamíferos aquáticos se diferenciavam das isoladas de mamíferos

terrestres, com a mesma característica de predileção de acordo com o hospedeiro preferencial (GROUSSAUD et al., 2007; ROSS et al., 1996), levando a uma classificação de duas novas espécies a *B. ceti*, anteriormente denominada *B. cetacea* segundo Cloeckert et al. (2001), tendo os cetáceos como hospedeiro principal, e a *B. pinnipedialis* segundo Cloeckert et al. (2001), tendo as focas como principais hospedeiros. Os isolados de *B. ceti* e *B. pinnipedialis* podem ser distinguidos por sua necessidade de CO para o crescimento e de acordo com seu metabolismo oxidativo.

A *B. ceti* foi isolada inicialmente a partir de uma lesão de pele em uma toninha, *Phocoena phocoena* (LINNAEUS, 1758). Tem como hospedeiros principais botos, golfinhos e baleias. Apresenta as características básicas do gênero *Brucella* spp., visíveis no meio de Farrell e no ágar-sangue de ovelha Columbia após 3 a 4 dias, não comuns em pares, normalmente individuais. Não necessita de CO<sub>2</sub> para crescimento, temperatura ideal de 37°C, crescendo entre 20 e 40°C. O pH ótimo é entre 6,6 a 7,4. O ácido glutâmico, a L-arabinose, a D-galactose, a D-ribose e a Dxilose são oxidados, já a L-alanina, L-asparagina, L-arginina, DL-ornitina e L-lisina não são oxidadas. O mesoeritritol pode ou não ser oxidado. As culturas são lisadas pelos fagos Iz e Wb, mas não ocorre lise nos fagos Tb e R / C (FOSTER et al., 2007).

A partir da análise de multilocos com indexação de 21 loci, os isolados de *B. ceti* foram subdivididos em 3 grupos: *B. ceti* tipo golfinho, *B. ceti* tipo boto e *B. ceti* tipo humano, de acordo com o hospedeiro preferencial sendo o último grupo de isolado referente a um caso humano na Nova Zelândia que não se agrupa a nenhum dos dois grupos anteriores (MAQUART et al., 2009), o que aumenta a necessidade de estudos e pesquisas para confirmação do poder zoonótico da infecção através dos mamíferos aquáticos (GROUSSAUD et al., 2007).

A caracterização molecular baseada no sequenciamento múltiplos loci genes permitiu a diferenciação de 3 genótipos diferentes isolados predominantemente de cetáceos ST23, ST26, ST27. Também através dos seguintes marcadores

moleculares de análise de restrição enzimática dos genes *omp2a*, *omp2b* e *omp25* (ROCCA, 2012).

A *B. pinnipedialis* foi isolada inicialmente a partir do baço de uma foca comum, *Phoca vitulina* (LINNAEUS, 1758). Tem como hospedeiro principal as focas. Apresenta as características básicas do gênero *Brucella* spp., visíveis no ágar sangue de ovelha Columbia normalmente entre 3 a 4 dias. O crescimento no meio de Farrell é lento, levando de 7 a 10 dias, ou ausente. Em sua maioria as cepas requerem suplemento de Co<sup>2</sup> para o crescimento, temperatura ideal de 37°C, crescendo entre 20 e 40°C. O pH ótimo é entre 6,6 a 7,4. Nos testes de metabolismo oxidativo, o ácido L-glutâmico, D-ribose e mesoeritritol são oxidados, já a L-alanina, L-arginina, L-asparagina, DLornitina, L-lisina, L-arabinose, D-galactose e D-xilose não são oxidados. A lise das culturas é produzida pelos fagos Iz e Wb, não ocorrendo lise com R / C. Um pequeno número de estirpes exibe lise com o fago Tb (Foster et al., 2007). Para os isolados de *B. pinnipedialis* a caracterização molecular baseada no sequenciamento múltiplos loci genes observou-se dois grupos ST24 e ST25 (ROCCA, 2012), Figura 1.

Característica	<i>B. ceti</i> (17 cepas)	<i>B. pinnipedialis</i> (11 cepas)
Urease	+	+
Lise por fago em RTD:		
Tb	NL	NL †
Wb	EU	EU
Iz	EU	EU
R/C	NL	NL
Oxidação de:		
L-Alanina	-	-
L-Arabinose	+	-
L-Arginina	-	-
L-Asparagina	-	-
meso-Eritritol	D	+
D-Galactose	+	-
L-Ácido Glutâmico	+	+
L-Lisina	-	-
D,L-Ornitina	-	-
D-Ribose	+	+
D-xilose	+	-
Anfitrião preferido	Cetáceos	Selos

**Figura 1.** Características diferenciais cepas marinhas. Características diferenciais de *Brucella ceti* sp. nov., *Brucella pinnipedialis* sp. nov. e outros membros do gênero *Brucella*. Adaptado: (Foster et al., 2007).

### 3.3 Cetáceos

Classificados como mamíferos aquáticos por possuírem características similares aos mamíferos terrestres, os cetáceos são subdivididos em duas ordens: os odontocetos (Odontoceti) e os misticetos (mysticeti). A ordem Odontoceti é composta pelos indivíduos que possuem cadeia dentária, importante para o consumo de peixes e lulas na dieta alimentar, entre os odontocetos podemos citar os golfinhos e botos. A ordem Mysticeti é composta pelos indivíduos que não possuem dentição, este grupo de mamíferos aquáticos possuem cerdas bucais, conhecidas popularmente como “barbatanas”, responsáveis pela captura e filtração dos alimentos, entre os misticetos podemos citar as grandes baleias, como a baleia jubarte (*Megaptera novaeangliae*) e a baleia de minke (*Balaenoptera acutorostrata*) (JACOBINA, 2000).

Ao observar a morfologia destes animais, fica mais fácil compreender como animais que possuem habitat exclusivamente aquático podem ser classificados como mamíferos. Os mamíferos aquáticos possuem glândulas mamárias, com fisiologia similar a dos mamíferos terrestres. Diferenciam-se também dos outros animais marinhos por possuírem a necessidade de respiração na superfície. (FORDYCE et al. 2009). A dinâmica populacional dos cetáceos esta intimamente



**Figura 2.** *Sotalia guianensis* encalhado morto, Santa Catarina.

Fonte: <https://g7sc.com.br/boto-cinza-encontrado-morto-em-sc-apresentava-roupa-intima-feminina-presas-nadadeiras-peitorais/>

relacionada com os impactos causados pela infecção por *B. ceti*, os golfinhos por exemplo são animais que se apresentam normalmente em grupos de 2 a 6 indivíduos, podendo chegar a 60 participantes, o que facilita a transmissão horizontal da bactéria entre estes. Nos aspectos reprodutivos, os *Sotalia guianensis* por exemplo levam cerca de 9,2 meses em gestação, normalmente com o nascimento de apenas um filhote por ciclo, além de terem a maturidade sexual alcançada em idades mais avançadas 6 anos em média (CARVALHO et al., 2012), 3x mais tarde que as novilhas por exemplo, que alcançam a maturidade aos 2 anos de vida em média (ARAÚJO et al., 2018).

Por possuírem habitat costeiro os cetáceos têm grande importância para a conservação do habitat marinho. Por conta da proximidade com a costa, os golfinhos, por exemplo, passaram a ser chamados de animais sentinelas, pois ajudam a monitorar o ecossistema esclarecendo aspectos epidemiológicos e sanitários das populações. Os registros de eventos epidemiológicos nestas

populações são essenciais para a identificação da circulação e da rota geográfica de doenças nos ambientes (GUIMARÃES, 2015).

### 3.4 Aspectos epidemiológicos

A partir do primeiro isolamento do patógeno em um feto abortado de um golfinho (*Tursiops truncatus*) outros estudos foram conduzidos buscando novos conhecimentos sobre a até então *Brucella maris*. Com o passar do tempo foi possível a constatação de que assim como as cepas terrestres as infecções em mamíferos marinhos variam de características sendo definida duas espécies distintas *B. ceti*, os cetáceos, golfinhos, botos e baleias e *B. pinnipedialis* para os pinípedes como as focas (NYMO et al., 2011).

Mais de 50 espécies de mamíferos marinhos foram descritas como soropositivas para *Brucella spp.*, como as toninhas, *Phocoena phocoena*, da família Phocoenidae, as lontras, *Lutra lutra*, da família Mustelidae e as focas comuns, *Phoca vitulina*, da família Phocidae, a grande maioria dos indivíduos que resultaram positivo para este tipo de infecção são de animais encalhados nas costas oceânicas das Américas e Europa, oceano Atlântico e das margens sudoeste e leste do oceano Pacífico (ORTOLANI, 2019). No Brasil a incidência da brucelose marinha tem suas maiores taxas no estado do Ceará (SOUSA et al., 2021), onde segundo a Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) está o segundo maior rebanho positivo do Brasil.

### 3.5 Transmissibilidade (ambiente marinho)

Apesar dos esforços contidos nos estudos, pouco se sabe ao certo quais os mecanismos utilizados pela *B. ceti* para a sua transmissão. Por serem imóveis e não possuírem boa resistência em ambientes externos é possível considerar que uma das principais formas de transmissão é o contato direto entre os cetáceos como por exemplo nas relações sexuais e amamentação (ROCCA, 2012). O isolamento de altas cargas do patógeno em amostras de fetos abortados e seus complementos nos permitem compreender que, o contato de outros animais com estes tecidos pode ser

uma via de transmissão de alto potencial. Assim como é possível construir uma relação de transmissão por via vertical da mãe para o feto, através do isolamento da *B. ceti* de fetos abortados e placentas (GONZALEZ- BARRIENTOS et al., 2010).

A partir do isolamento da *B. ceti* do leite, anexos fetais, secreções liberadas durante o período de gestação, órgãos reprodutores, é possível a conclusão da transmissão vertical e horizontal, afirmando assim o tropismo característico deste patógeno por órgãos reprodutores como acontece nos mamíferos terrestres (HERNÁNDEZ-MORA et al., 2008)

A presença de parasitas nematódeos pulmonares como *Halocercus* e *Pseudalius* infectados por *Brucella spp.* evidenciou a capacidade de transmissão alimentar desta bactéria. Pouco se sabe sobre o ciclo de vida destes parasitos, porém é de conhecimento geral que estes nematóides possuem como hospedeiros alguns peixes que fazem parte da dieta alimentar de golfinhos e baleias, o que pode propor uma via de infecção e transmissibilidade através da alimentação (DAWSON et al. 2008). Estudos conduzidos por EL-TRAS et al. (2010) observaram que a *B. melitensis* possui a capacidade de se reproduzir nos nematódeos que infectam peixes de água doce gerando assim a possibilidade da existência de vetores de transmissão no ambiente aquático.

### 3.6 Aspectos imune estimulado pela *Brucella ceti*

Em relação ao sistema imunológico dos mamíferos marinhos, apesar das condições naturais serem bastante diferenciadas, existe uma grande similaridade com os mamíferos terrestres. Os órgãos linfóides primários e secundários possuem as mesmas características com algumas diferenças, como por exemplo o baço dos cetáceos é extremamente menor em relação a outros mamíferos, cerca de 0,2% do peso corporal, podendo também ser acompanhado pelos chamados “baços acessórios” ainda menores (ROMANO et al. 1993). Baleias e golfinhos possuem fibras de músculo na camada subcapsular de alguns linfócitos, que possibilita um movimento ativo do órgão, potencializando a filtração do fluido linfático através da contração capsular nos linfonodos (COWAN; SMITH, 1999).

Os mamíferos aquáticos não possuem ceco e apêndice, importantes ferramentas para o sistema linfático, com grandes aglomerados de tecido linfóide. Alguns cetáceos possuem um órgão linfoepitelial mucoso no canal anal denominadas de tonsilas anais. Com exceção das espécies *Delphinus delphis* (Golfinho-comum-de-bico-curto) e *Phocoena phocoena* (Toninha-Comum), a arquitetura dos linfonodos é igual à dos mamíferos terrestres. As espécies citadas anteriormente possuem disposição córtex medular contrária aos padrões, semelhante aos equinos e suínos (SILVA, 2014).

Estudos experimentais realizados em camundongos, com infecção por *B. ceti* e *B. pinnipedialis* indicam que a defesa bacteriológica é iniciada com a imunidade inata precoce e posteriormente pela resposta adaptativa. Foi possível relatar que a resposta IgM apresentou níveis mais altos no dia 14 e a resposta IgG obteve maiores picos no dia 21. Para a análise de citocinas séricas os resultados encontrados foi um aumento de IL-12 no sétimo e no décimo quarto dia de experimento (NYMO et al., 2016).

Os receptores de reconhecimento padrão (PRRs) iniciam o processo de reconhecimento do antígeno através dos padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs), estes PRRs estão presentes na membrana plasmática ou em compartimentos intracelulares. Dentre os PRRs os receptores tipo toll (TLR - Toll like receptors) destacam-se por serem responsáveis pela sinalização, ativação de linfócitos e ativação de cascatas para a expressão de moléculas co-estimuladoras como CD80 e CD86, que codificam glicoproteínas da superfamília das imunoglobulinas, expressas nas células apresentadora de antígeno (APC), como os macrófagos (MELO, J. 2017). Oliveira et al., 2008 evidenciam a participação do TLR2 e TLR4. HUANG et al., (2005) apontam que o DNA da *Brucella spp.* possui ligantes para o TLR9, essencial para a ativação de citocinas Th1. Segundo MACEDO et al., 2008 a ausência do TLR9 diminui a produção de linfócitos B, macrófagos e outras células de defesa. Além dos segmentos expostos acima a IL-8, IL-6, IL-1 e o TNF- $\alpha$  (Fator alfa de necrose tumoral) são citados como importantes

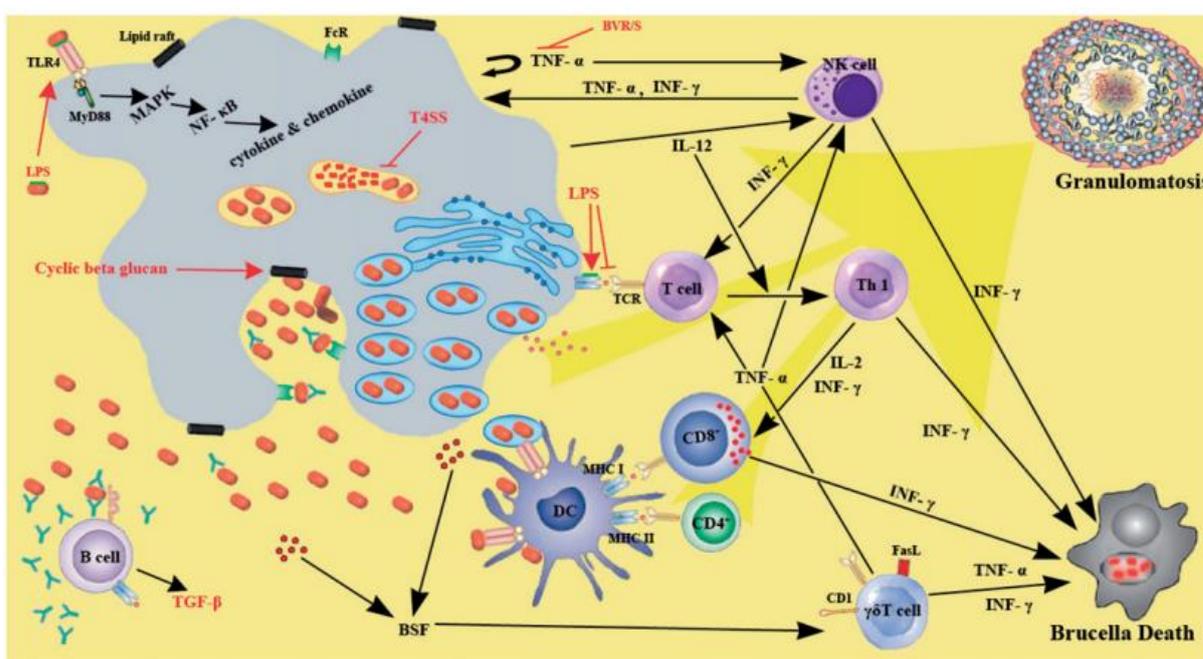
fatores de reconhecimento e ativação do sistema imunológico (COELHO-CASTELLO et al., 2009).

Moléculas especializadas em fagocitose como os macrófagos atuam de forma necessária para a defesa contra os microorganismos patogênicos através da indução de superóxido, peróxido de hidrogênio e óxido nítrico, além da produção de citocinas como a IL-12, que induz a resposta do tipo Th1 pela produção do IFN $\gamma$  (Interferon gama) através da ativação de mais macrófagos. As células dendríticas possuem o papel de apresentação de antígeno e produção da IL-12 que irão estimular as células NK (Natural killer) a produzirem mais IFN $\gamma$ . A IL-12 exerce o papel de ativação de células TCD4+ diferenciando-as para o perfil de resposta imune TH1 que irá produzir IFN $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . O IFN $\gamma$  possui ainda outro papel essencial para a resposta imunológica contra o patógeno, é responsável por ativar as funções microbidas dos macrófagos e estimulação do MHC de classe I e II (Complexo de histocompatibilidade principal) que induz a troca da imunoglobulina IgG em IgG2a favorecendo a fagocitose (REIS L. B., et al. 2015).

Apesar da grande importância da resposta imunológica inata para o controle da infecção por *Brucella spp.* a efetividade da resposta adquirida tende a apresentar maior definição contra este tipo de infecção. As moléculas co-receptoras CD4+ e CD8+, presentes nos linfócitos T auxiliares e T citotóxicos respectivamente, determinam a classe MHC que será responsável pelo processamento dos fragmentos peptídicos do antígeno. Os linfócitos TCD4+ e suas citocinas são fatores importantes para a efetividade da resposta imunológica, porém os linfócitos TCD8+ e sua atividade citotóxica é considerada a resposta imunológica com maior eficiência para o controle da infecção por *Brucella spp.* (MOL, 2012).

Após a entrada da *Brucella spp.*, a primeira linha de defesa, incluindo macrófagos e DCs, é ativada, o patógeno entra nos macrófagos via TLRs, receptores Fc e jangadas lipídicas ocorrendo a formação dos fagolisossomos. A maioria das bactérias é morta nos fagolisossomos e o restante persiste no nicho intracelular e inicia a multiplicação. As células B participam da internalização de *Brucella spp.* em macrófagos por meio da secreção de anticorpos. Os macrófagos

apresentam antígenos de *Brucella spp.* às células T via MHCs e ativam as células T do tipo Th1. A internalização por TLRs ativa vias de sinalização associadas a citocinas e quimiocinas. Além disso, os macrófagos podem afetar a ativação das células NK pela secreção de citocinas. Antígenos de *Brucella spp.* são apresentados às células CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> via MHC para que haja a ação citotóxica principalmente das células CD8<sup>+</sup> debelando a infecção (AMJADI et al. 2019).



**Figura 3.** Resposta imune a *Brucella spp.* Fonte: (AMJADI O. et al. 2019)

### 3.7 Patogênese nos cetáceos

Após a infecção, que pode ocorrer tanto por via de contato direta com indireta, a bactéria é transportada por células fagocíticas para os linfonodos. Por possuir predileção pelo eritritol (álcool polihídrico com quatro carbonos), que ao ser metabolizado pelo patógeno torna-se uma fonte de carbono e energia (SAMARTINO & ENRIGHT, 1996), costuma ter tropismo por células do sistema reprodutor como as células do útero, sistema mamário e epidídimo. Diferente de outras bactérias gram-negativas a *Brucella spp.* não possui mecanismos de virulência como exotoxinas, citolisinas, flagelo, cápsula, fímbria, plasmídios, fagos lisogênicos, formas de resistência, variação antigênica, lipopolissacarídeo endotóxico ou indutores apoptóticos (MORENO & MORIYÓN, 2001), este patógeno possui a capacidade de

adaptar-se a baixos níveis de nutrientes, oxigênio e ao pH ácido (KOHLEER et al., 2002).

Apesar de não possuir todos os seus mecanismos de virulência totalmente elucidados sabe-se que a *Brucella spp.* possui como fatores importantes para o seu desenvolvimento, multiplicação e sobrevivência as seguintes ferramentas: (1) Sistema regulatório BvR/BvrS; (2) Sistema transportador ABC; (3) a camada LPS; (4)  $\beta$ -1,2 glucanos cíclicos; (5) Sistema de secreção tipo IV, entre outros como a atividade de catalase e urease e a ação de determinados genes para a codificação de outras proteínas (SÁ, J.C., 2011).

O sistema regulatório BvR/BvrS é composto por duas proteínas, a BvR é uma proteína regulatória e BvrS é uma proteína histidina-quinase, que provocam o recrutamento de GTPases e polimerização de fibra de actina, permitindo assim a invasão celular (GUZMAN-VERRI et al., 2002). Além disso estudos realizados com cepas mutantes, apresentam multiplicação reduzida, persistência mínima em baço de camundongos, invasividade e replicação limitada nos macrófagos, sugerindo incapacidade de inibir a fusão do fagolisossomo, resposta imunitária importante para a opsonização do patógeno (KO & SPLITTER, 2003).

O sistema transportador ABC é um conjunto de proteínas transmembrana que utilizam a energia resultante da hidrólise de ATP para o transporte de uma gama de moléculas através de membranas biológicas, tanto para dentro (importação) quanto para fora (exportação) das células hospedeiras (MOREIRA, D. 2012). Estudos realizados com camundongos infectados por uma cepa de *B. ovis* mutante, sem a presença do sistema transportador ABC confirmam a importância deste para a sobrevivência intracelular do patógeno, obtendo o resultado de atenuação da cepa no baço e fígado das amostras (SILVA, T.M et al, 2011).

A camada de lipopolissacarídeo presente no antígeno é determinante para a virulência e permanência do patógeno no organismo hospedeiro. A LPS é composta por três segmentos: uma camada de oligossacarídeos, lipoproteína A e uma cadeia O ou antígeno O, responsável pela atividade virulenta da LPS (ANDREAS F., et al, 2010), comprovado mediante estudos que amostras mutantes são atenuadas nos

macrófagos (Lapaque et al., 2005). A camada de lipopolissacarídeo possui menor susceptibilidade à atividade dos macrófagos, baixa atividade ferropénica e baixa pirogenicidade. Através da produção de nucleotídeos guanina e adenina monofosfato ocorre a inibição do fagolisossomo, da degranulação, da ativação do sistema Zinco-cobre-superóxido e da produção do TNF (fator de necrose tumoral) (BIZARRO, B. 2015).

O  $\beta$ -1,2 glucanos cíclicos são responsáveis por agirem nas balsas lipídicas dos macrófagos afetando o tráfego intracelular, desta forma participam do controle da fusão fagolisossomal (GŁOWACKA et al, 2018). Após adentrar as células de defesa, como o macrófago ocorre a formação de um vacúolo, denominado BCV (vacúolo contendo Brucella) que interage com os sítios de exportação do retículo endoplasmático, formando uma organela intracelular que irá permitir a replicação, esta interação e aquisição de membranas do RE é mediada pelo TSS4 (sistema de secreção do tipo IV), codificado pelo *locus VirB* (SOUZA, F.G., 2009).

O TSS4 também é responsável pelo tráfego intracelular do patógeno, através de uma via específica que escapa da fusão fagolisossomal permitindo a localização no interior de vesículas associadas ao RE onde encontram-se os sítios intracelulares de replicação. Sendo assim é possível observar que o sistema de secreção tipo IV age na sobrevivência intracelular, maturação do vacúolo e transporte ao sítio de replicação (BOSCHIROLI, M. L., et al. 2002).

Além dos fatores citados anteriormente, estudos abordam a existência de superóxido dismutase e catalase (GEE et al. 2005), urease (SANGARI et al. 2007), citocromo oxidase (LOISE-MEYER et al. 2005), Alquil hidroperóxido redutase (AhpC, AhpD), Óxido nítrico redutase (NorD) e Reparo por excisão de base (BER) (SELEEM et al. 2008) e o Fator de virulência Brucella A (BvfA) proteína periplasmática que ocorre apenas no gênero *Brucella* (LAVIGNE et al., 2005), como outros mecanismos que atuam na sobrevivência e evolução deste patógeno nos organismos infectados.

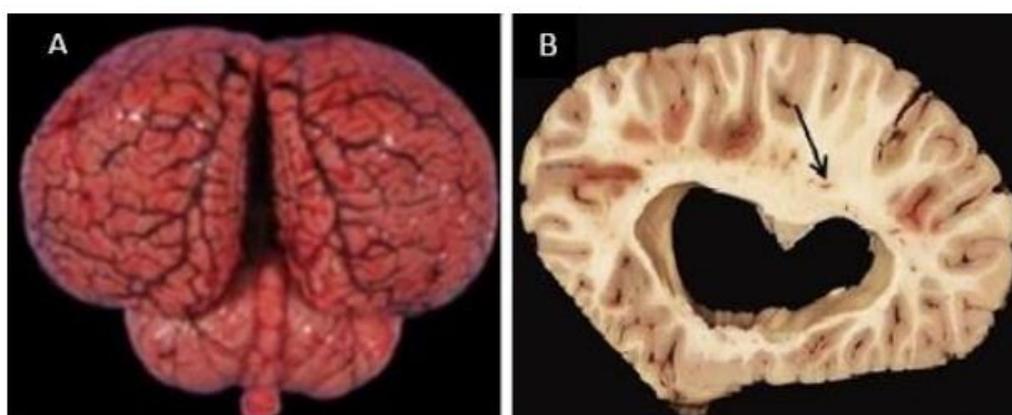
### 3.8 Alterações patológicas

A brucelose marinha, assim como a brucelose nos mamíferos terrestres é considerada como uma doença sistêmica, desta forma é possível observar diversas alterações patológicas em vários sistemas como o sistema reprodutivo, um dos mais afetados por este patógeno, sistema cardiovascular, sistema nervoso central, ossos e articulações, sistema respiratório, sistema reticuloendotelial, pele e outros órgãos (GUZMÁN-VERRI et al., 2012).

Em relatos que discorrem sobre o sistema reprodutor masculino e feminino, MILLER, G.W. et al. (1999) descreve os primeiros casos de placentite induzida por *Brucella spp.* em golfinhos nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) habitantes do norte da Escócia, o patógeno foi isolado a partir de fetos abortados e seus anexos. OHISHI, K. et al. (2003) relatou a presença de lesões nodulares nos testículos, granulomas nodulares no endométrio uterino, orquite crônica purulenta granulomatosa, de baleias minke comum (*Balaenoptera acutorostrata*) do pacífico norte ocidental. GONZALÉZ-BARRIENTOS et al. (2010) demonstram a presença de placentite necrosante grave e um feto morto em um golfinho listrado (*Stenella coeruleoalba*) encontrado encalhado vivo na costa leste do pacífico tropical da Costa Rica. neste estudo foi possível o isolamento do patógeno a partir de vários órgãos tanto do indivíduo adulto quanto do feto morto. Alterações morfológicas como aumento testicular, por conta da presença de abscesso contido em cápsula fibrosa, em uma toninha (*Phocoena phocoena*), também são descritas (DAGLEISH, M.P. et al. 2008).

Para a sobrevivência no ambiente marinho o sistema cardiovascular destes mamíferos possui algumas adaptações como a retia, massa de vasos do sangue, que controla a frequência sanguínea dos cetáceos nas alterações de pressão, que ocorrem frequentemente pelos mergulhos profundos e retornos a superfície para a respiração (OCHRYMOWYCH; LAMBERTSEN, 1984). Alterações no sistema cardiovascular estão diretamente associados a problemas na natação e possível encalhe desses animais (PONGANIS, 2008). Em estudo com uma fêmea de golfinho listrado (*Stenella coeruleoalba*) que apresentava neurobrucelose foi possível observar endocardite conspícua grave (GONZALÉZ-BARRIENTOS et al., 2010).

A neurobrucelose vem sendo descrita com frequência em golfinhos listrados, ainda que seja desconhecida a via de passagem pela barreira hematoencefálica, diferente dos outros mamíferos terrestres, com exceção dos humanos diagnosticados com brucelose de cepas marinhas (SOHN et al., 2003). Os achados patológicos presentes no sistema nervoso central são hiperemia de meninges e cérebro, turbidez de líquido cefalorraquidiano com aumento de volume e celularidade (DAVISON et al., 2009). Sinais clínicos como opistótono, dificuldade na flutuabilidade, convulsões, desorientação e tremores, foram descritos (GUZMÁN-VERRI, C. et al 2012).



**Figura 4.** Achados patológicos - (A) Hemisférios cerebrais e cerebelo apresentando hiperemia nos vasos meníngicos de um golfinho riscado. (B) Hidrocéfalo com aumento dos ventrículos laterais observados em seção transversal da região caudo-lateral do hemisfério esquerdo do cérebro de um golfinho riscado provocado por acumulação de líquido cefalorraquidiano secundário a inflamação envolvente ao sistema ventricular, seta indica um vaso sanguíneo hiperêmico. Fonte: Bizzarro, 2015.

Apesar de não estar claramente associada com a infecção pulmonar, cetáceos que possuíam nematóides infectados apresentavam infecções inflamatórias e lesões patológicas como pneumonia necrosante aguda, subaguda e crônica. As infecções pulmonares estão intimamente ligadas com os encalhes pois alteram a capacidade de natação dos indivíduos (TRYLAND, M. et al. 1999). As lesões encontradas em golfinhos listrados são similares às presentes em humanos infectados por *Brucella spp.* estas lesões são caracterizadas por pneumonia intersticial e broncopneumonia, alterações bronquiolares, hiperemia e hiperplasia fibromuscular (GARCÍA-RODRIGUEZ et al. 1989; MUNÓZ, P. et al. 2006).



**Figura 5.** Golfinho listrado vivo (*Stenella coeruleoalba*) com neurobrucelose, também apresentando lesões de causa desconhecida, manuseadas por habitantes de Playa Guiones, Costa Rica (24 de agosto de 2011).  
Fonte: Hernández-Mora et al., 2013.

### 3.9 Diagnóstico clínico-epidemiológico e laboratorial

Apesar dos esforços para o isolamento e caracterização da *B. ceti* até o presente momento não existe um teste diagnóstico específico para a brucelose nos animais marinhos, este impasse deve-se principalmente às condições em que estes animais normalmente são encontrados e estudados. Em sua maioria as pesquisas relacionadas a brucelose marinha são produzidas através de animais encalhados, normalmente mortos e em estado de putrefação já avançado, o que dificulta tanto o diagnóstico clínico, como as pesquisas laboratoriais por conta de possíveis infecções concomitantes por outros patógenos (DAWSON, C. et al. 2008).

A fim de determinar um teste sorológico específico para a brucelose nos mamíferos marinhos, Hernández-Mora et al. 2009 produziram um ensaio enzimático indireto (iElisa) que identifica as imunoglobulinas G (IgGs) de 17 espécies de odontocetos em um único grupo, com a utilização de lipopolissacarídeos de *B. melitensis* e *B. abortus*, amostras sorológicas de indivíduos negativos para doenças infecciosas e indivíduos infectados com a *B. ceti*. O estudo fez a comparação do teste iElisa com o do da proteína G (gElisa), o Elisa competitivo (cElisa), teste de

imunofluorescência (IF) e dot blot (DB). A partir da análise dos resultados de correlação e concordância foi possível constatar que a sensibilidade e especificidade do iElisa foi superior ao gElisa e cElisa, apresentando boa concordância 65% com o teste gElisa e baixa apenas 46% com o teste Elisa competitivo. Em relação aos testes de IF e DB o projeto de teste padrão “ouro” para diagnóstico da brucelose nos cetáceos, iElisa, apresentou maior especificidade (HERNÁNDEZ-MORA et al. 2009).

O isolamento do patógeno demanda ainda mais esforços que a identificação de respostas antigênicas por testes sorológicos. Em sua maioria os indivíduos utilizados para as pesquisas apresentam condições corporais desfavoráveis que dificultam o isolamento do patógeno (MAQUART M., et al. 2009). A partir de uma investigação imuno-histoquímica, realizada em uma toninha (*Phocoena phocoena*) capturada viva na costa da Bélgica, com necropsia realizada logo após óbito, foi possível observar coloração positiva intracitoplasmática difusa para *Brucella spp.*. A microscopia eletrônica também apresentou resultado positivo para o agente. O isolamento foi feito em ágar *Brucella* e apresentou atividade de catalase, oxidase e urease, com perfil tipo de *B. ceti* (JAUNIAUX, T.P. et al. 2010).

Com o aumento dos isolados de *B. ceti* passou a ser possível a caracterização molecular destes patógenos principalmente por análise de sequência multilocus (MLSA) e análise de multilocus de número variável (MLVA) que conseguiram identificar 3 grupos principais de *B. ceti*. O genótipo ST27 apresenta destaque por estar relacionado a 3 casos de infecção em humanos (WHATMORE, A.M. et al. 2017).

Os resultados obtidos através de testes sorológicos para infecção por *Brucella spp.* em animais de vida livre, como é o caso da maioria dos cetáceos, necessitam de uma análise crítica minuciosa visto que os testes empregados nestes indivíduos normalmente são produzidos para animais de produção, onde existe todo um conhecimento de exposição e evolução destes indivíduos. É importante salientar que resultados sorológicos positivos não necessariamente indicam a presença de infecção ativa nos indivíduos, pois os níveis séricos e imunológicos podem variar ao longo da vida do hospedeiro. O padrão ouro para o diagnóstico de infecção por *B.*

*ceti* nos cetáceos segue sendo o isolamento e cultivo bacteriológico (ROCCA, M. 2014).

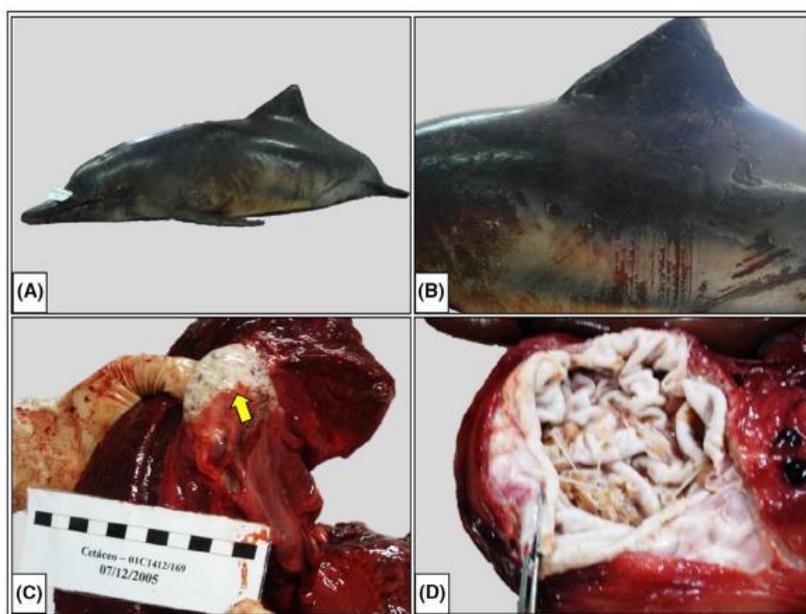
### 3.10 Descrição de brucelose marinha em cetáceos da costa brasileira

O Brasil possui aproximadamente 9500 km de costa com uma biodiversidade extremamente vasta. Os cetáceos estão presentes praticamente por toda a faixa litorânea brasileira. Os golfinhos e os botos são mamíferos aquáticos que possuem hábitos costeiros o que permite uma maior relação com os seres humanos. cerca de 40 espécies de cetáceos já foram registradas na costa brasileira. Na região nordeste as espécies mais presentes são o boto (*Sotalia guianensis*) e o golfinho (*Tursiops truncatus*) (SILICIANO, SALVATORES, 2001).

Um estudo realizado na costa brasileira comprovou a exposição dos cetáceos a *B. ceti*, com a análise de 129 indivíduos encontrados encalhados, vivos ou mortos, ou capturados. Neste estudo não foi possível a colonização da bactéria. Foram realizadas análises moleculares através da extração de DNA, onde 13 dos 129 indivíduos analisados apresentaram resultado positivo no teste de PCR. Dos animais positivos 11 foram levados a necropsia e as seguintes alterações foram registradas: linfadenomegalia, esplenomegalia, osteoartite; e broncopneumonia associada a presença de *Halocercus* em um golfinhos no estado do Ceará (SANCHEZ-SARMIENTO et al. 2017; 2019). Em 2017 também foi obtido resultado positivo em um exame PCR de um golfinho no estado de Pernambuco (ATTADEMO, F. et al. 2017).

O boto cinza (*Sotalia guianensis*) é o cetáceo de maior distribuição geográfica da costa brasileira, sendo possível a sua observação por praticamente toda esta. Por possuir hábito costeiro está vulnerável à ação humana, tanto diretamente como por causa da atividade pesqueira, quanto indiretamente pela degradação do ambiente. Por conta desta característica, indivíduos pertencentes a esta espécie vêm sendo considerados como animais sentinelas (MOURA, J. 2009). Um estudo realizado com os animais no Nordeste conseguiu obter resultado positivo para a *B. ceti* através de testes moleculares tipo PCR. Neste estudo não foi possível identificar

a colonização da bactéria. Um *S. guianensis*, Figura 6. macho encontrado morto no estado de Pernambuco apresentava os seguintes achados patológicos, pulmões enfisematosos, degeneração e necrose dos hepatócitos e hiperplasia focal no epitélio da bexiga, marcas de redes de pesca na pele, presença de restos alimentares de peixes no estômago (SOUSA et al., 2021).



**Figura 6.** *Sotalia guianensis* macho com PCR positivo. Fonte: (Sousa, G.P. et al 2021).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

É importante considerar que existe um avanço nos casos de brucelose em humanos decorrente de cepas marinhas, o que nos leva a fomentar a necessidade das pesquisas voltadas ao assunto.

Os mamíferos marinhos têm grande importância na descrição da saúde do seu ecossistema. Quando se é percebido o aumento de doenças nestes, pode-se nos atentar para a contaminação ambiental. Já que diante dos casos relatados a maior prevalência de infecções advindas da brucelose marinha em humanos.

A contaminação por via alimentar, mesmo não havendo contato direto do homem com o mamífero infectado, foi constatado nessa revisão de literatura.

A infecção em mamíferos terrestres como nos casos em humanos salienta a necessidade no aumento de pesquisas voltada a *B. ceti*, pois é possível perceber a capacidade evolutiva da bactéria que inicialmente foi capaz de se adaptar ao ambiente marinho e posteriormente capaz de induzir infecção no ambiente terrestre.

## REFERÊNCIAS

AMJADI, OMOLBANIN & RAFIEI, ALIREZA & MARDANI, MASOUD & ZAFARI, PARISA & ZARIFIAN, AHMADREZA. (2019). A review of the immunopathogenesis of Brucellosis. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 1-13. 10.1080/23744235.2019.1568545.

ANDREAS F. HAAG, KAMILA K. MYKA, MARKUS FF ARNOLD, PAOLA CARO-HERNÁNDEZ, GAIL P. FERGUSON, " Importância do Lipopolissacarídeo e Cyclic  $\beta$ -1,2-Glucans em *Brucella* -Infecções de Mamíferos ", *International Journal of Microbiology* , v. 2010, Artigo ID 124509, 12 páginas, 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/124509>

ARAÚJO, A. C. R., SALES, Á. F. F., FERREIRA, J. P. V., & DAS NEVES NETO, J. T. (2018, December). Indução à puberdade em novilhas. In Anais Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar (ISSN-2527-2500) & Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar.

BOSCHIROLI, M. L.; OUAHRANI-BETTACHE, S.; FOULONGNE, V.; et al. Type IV secretion and *Brucella* virulence. *Vet. Microbiol.*, v.90, p.341-348, 2002.

BRICKER B.J., EWALT D. R., MACMILLAN A.P., FOSTER G., BREW S. Caracterização Molecular de Cepas de *Brucella* Isoladas de Mamíferos Marinhos. *Journal of clinical microbiology*. 2000 <https://doi.org/10.1128/JCM.38.3.1258-1262.2000>

CARVALHO, A.P.M. et al. Crescimento e desenvolvimento de boto-cinza (*Sotalia guianensis*) do litoral do Espírito Santo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* [online]. 2012, v. 64, n. 1, pp. 205-208. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000100029>>. Epub 23 Mar 2012. ISSN 1678-4162. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000100029>.

CLAVAREAU C., WELLEMANS V., WALRAVENS K., TRYLAND M., VERGER JM, GRAYON M., CLOECKAERT A., LETESSON JJ, GODFROID J. (1998). Caracterização fenotípica e molecular de uma linhagem de *Brucella* isolada de uma baleia minke ( *Balaenoptera acutorostrata* ) . *Microbiology* 144 , 3267–3273 10.1099/00221287-144-12-3267

COELHO-CASTELLO, A.A.M; TROMBONE, A.P.F; ROCHA, C.D; LORENZI, J.C.C. 2009. Resposta imune às doenças infecciosas. *Medicina (Ribeirao Preto)*,42:127-42.

COWAN, D. F.; SMITH, T. L. Morphology of the lymphoid organs of the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*. *Journal of Anatomy*, v. 194, p. 505-517, 1999.

DAGLEISH, MP, BARLEY, J., FINLAYSON, J., REID, RJ, & FOSTER, G. (2008). *Brucella ceti* Patologia Associada no Testículo de uma Toninha (*Phocoena*

phocoena). *Journal of Comparative Pathology*, 139(1), 54–59.  
doi:10.1016/j.jcpa.2008.03.004

DAVISON, N. J., CRANWELL, M. P., PERRETT, L. L., DAWSON, C. E., STUBBERFIELD, E. J., DEAVILLE, R., ... JARVIS, D. S. (2009). Meningoencephalitis associated with *Brucella* species in a live-stranded striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) in south-west England. *Veterinary Record*, 165(3), 86–89. doi:10.1136/vetrec.165.3.86

FORDYCE, R. E. (2009). *Cetacean Evolution. Encyclopedia of Marine Mammals*, 201–207. doi:10.1016/b978-0-12-373553-9.00053-5

GEE JM, KOVACH ME, GRIPPE VK, HAGIUS S., WALKER JV, ELZER PH E ROOP 2ND RM. 2005. A *Brucella abortus* Cu, Zn superóxido dismutase é necessária para a resistência ideal à morte oxidativa por macrófagos murinos e virulência do tipo selvagem em camundongos infectados experimentalmente . *Infectar. Immun.* 73 ( 5 ): 2873-2880.

GŁOWACKA P, ŻAKOWSKA D, NAYLOR K, NIEMCEWICZ M, BIELAWSKA-DRÓZD A. *Brucella* - Virulence Factors, Pathogenesis and Treatment. *Pol J Microbiol.* 2018 Jun 30;67(2):151-161. doi: 10.21307/pjm-2018-029. PMID: 30015453; PMCID: PMC7256693.

GONZÁLEZ-BARRIENTOS R, MORALES JA, HERNÁNDEZ-MORA G, BARQUERO-CALVO E, GUZMÁN-VERRI C, CHAVES-OLARTE E, MORENO E. Pathology of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) infected with *Brucella ceti*. *J Comp Pathol.* 2010 May;142(4):347-52. doi: 10.1016/j.jcpa.2009.10.017. Epub 2009 Dec 2. PMID: 19954790.

GROUSSAUD P, SHANKSTER SJ, KOYLASS MS, WHATMORE AM. A tipagem molecular divide as linhagens de mamíferos marinhos de *Brucella* em pelo menos três grupos com preferências distintas de hospedeiro. *J Med Microbiol.* 2007; 56 :1512-1518. doi: 10.1099/jmm.0.47330-0.

GUIMARÃES, Y. V. Animais sentinelas em doenças infecciosas; Orientação de Prof.Dr. Paula Diniz Galera Monografia – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2015

GUZMÁN-VERRI C, GONZÁLEZ-BARRIENTOS R, HERNÁNDEZ-MORA G, MORALES JA, BAQUERO-CALVO E, CHAVES-OLARTE E, MORENO E. *Brucella ceti* and brucellosis in cetaceans. *Front Cell Infect Microbiol.* 2012 Feb 6;2:3. doi: 10.3389/fcimb.2012.00003. PMID: 22919595; PMCID: PMC3417395.

HERNÁNDEZ-MORA G, MANIRE CA, GONZÁLEZ-BARRIENTOS R, BARQUERO-CALVO E, GUZMÁN-VERRI C, STAGGS L, THOMPSON R, CHAVES-OLARTE E, MORENO E. Serological diagnosis of *Brucella* infections in odontocetes. *Clin Vaccine Immunol.* 2009 Jun;16(6):906-15. doi: 10.1128/CVI.00413-08. Epub 2009 Apr 22. PMID: 19386800; PMCID: PMC2691062.

HERNÁNDEZ-MORA, G.; PALACIOS-ALFARO J.D.; GONZÁLEZ-BARRIENTOS R.. Wild reservoirs of brucellosis: *Brucella* in aquatic environments. Scientific & Technical Review. 2013 04 1; 32 (1): 89-103. doi: <http://dx.doi.org/10.20506/rst.32.1.2194>.

HUANG, L.Y.; ISHII, K.J.; AKIRA, S.; ALIBERTI, J.; GOLDING, B. 2005. Th1-like cytokine induction by heat-killed *Brucella abortus* is dependent on triggering of TLR9. *Journal of Immunology*, 175: 3964-3970.

JACOBINA, ANA MARIA SOUZA. Os Cetáceos. Os Cetáceos , [s. l.], 2000.

JAUNIAUX TP, BRENEZ C, FRETIN D, GODFROID J, HAELTERS J, JACQUES T, KERCKHOF F, MAST J, SARLET M, COIGNOUL FL. *Brucella ceti* infection in harbor porpoise (*Phocoena phocoena*). *Emerg Infect Dis*. 2010 Dec;16(12):1966-8. doi: 10.3201/eid1612.101008. PMID: 21122233; PMCID: PMC3294555.

KO, J.; SPLITTER, G. A. Molecular host-pathogen interaction in brucellosis: current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans. *Clin. Microb. Rev.*, v. 16, p.65-78, 2003.

KOHLER S.; PORTE, F.; JUBIERMAURIN, V.; et al. The intramacrophagic environment of *Brucella suis* and bacterial response. *Vet. Microbiol.*, v.90, p.299-309, 2002.

LAPAQUE, N.; MORIYON, I.; MORENO, E.; et al. *Brucella* lipopolysaccharide acts as a virulence factor. *Curr. Opin. Microbiol.*, v.8, p.60-66, 2005.

LOISER-MEYER S., DE BAGÜÉS MPJ, KÖHLER S., LIAUTARD JP E JUBIERMAURIN V.. 2005. Uso diferencial das duas oxidases terminais de alta afinidade ao oxigênio de *Brucella suis* para multiplicação *in vitro* e intramacrofágica . *Infectar. Immun.* 73 ( 11 ): 7768-7771.

MAQUART M, LE FLÈCHE P, FOSTER G, TRYLAND M, RAMISSE F, DJØNNE B, AL DAHOUK S, JACQUES I, NEUBAUER H, WALRAVENS K, GODFROID J, CLOECKAERT A, VERGNAUD G. MLVA-16 typing of 295 marine mammal *Brucella* isolates from different animal and geographic origins identifies 7 major groups within *Brucella ceti* and *Brucella pinnipedialis*. *BMC Microbiol*. 2009 Jul 20;9:145. doi: 10.1186/1471-2180-9-145. PMID: 19619320; PMCID: PMC2719651.

MELO, J. Avaliação da influência das moléculas Pd-1, CD39 e CD37 na imunomodulação induzida pela infecção com a bactéria *Brucella abortus*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, p.85. 2017

MILLER WG, ADAMS LG, FICHT TA, CHEVILLE NF, PAYEUR JP, HARLEY DR, HOUSE C, RIDGWAY SH. *Brucella*-induced abortions and infection in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *J Zoo Wildl Med*. 1999 Mar;30(1):100-10. PMID: 10367651.

MOL. J. P. S., RESPOSTA DE CÉLULAS TROFOBLÁSTICAS BOVINAS À INFECÇÃO POR *Brucella abortus*: UMA ABORDAGEM PROTEÔMICA. Tese

(Programa de Pós-graduação em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas, Belo Horizonte, p.126. 2012

MOREIRA, DOUGLAS DE SOUZA. Caracterização molecular de transportadores ABC e análise dos níveis intracelulares de antimônio em populações de *Leishmaniaspf.* do Novo Mundo sensíveis e resistentes ao antimônio trivalente..., 2012. 144 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)-Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, 2012.

MORENO, E.; MORIYON, I. *Brucella melitensis*: a nasty bug with hidden credentials for virulence. *Pro. Nat. Acad. Sci.*, v.99, p.1-3, 2002.

MUÑOZ PM, GARCÍA-CASTRILLO G., LÓPEZ-GARCÍA P., GONZÁLEZ-CUELI JC, DE MIGUEL MJ, MARÍN CM, BARBERÁN M., BLASCO JM (2006). Isolamento de espécies de *Brucella* de golfinho listrado encalhado vivo ( *Stenella coeruleoalba* ) na Espanha . *Veterinario. Gravando.* 158 , 450–451 10.1136/vr.158.13.450

NYMO, I. H., ARIAS, M. A., PARDO, J., ÁLVAREZ, M. P., ALCARAZ, A., GODFROID, J., & JIMÉNEZ DE BAGÜÉS, M. P. (2016). *Marine Mammal Brucella Reference Strains Are Attenuated in a BALB/c Mouse Model.* *PLOS ONE*, 11(3), e0150432. doi:10.1371/journal.pone.0150432

NYMO, IH, TRYLAND, M. & GODFROID, J. Uma revisão da infecção por *Brucella* em mamíferos marinhos, com ênfase especial em *Brucella pinnipedialis* na foca encapuçada ( *Cystophora cristata* ). *Vet Res* **42**, 93 (2011). <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-93>

OCHRYMOWYCH C., LAMBERTSEN RH (1984). Anatomia e vasculatura de um coração de baleia minke . *Sou. J. Anat.* 169 , 165–175 10.1002/aja.1001690205

OHISHI K, ZENITANI R, BANDO T, GOTO Y, UCHIDA K, MARUYAMA T, YAMAMOTO S, MIYAZAKI N, FUJISE Y. Pathological and serological evidence of *Brucella*-infection in baleen whales (Mysticeti) in the western North Pacific. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2003 Mar;26(2):125-36. doi: 10.1016/s0147-9571(02)00036-x. PMID: 12493493.

OLIVEIRA, S.C.; OLIVEIRA, F.S.; MACEDO, G.C.; ALMEIDA, L.A; CARVALHO, N.B. 2008. The role of innate immune receptors in the control of *Brucella abortus* infection: Toll-like receptors and beyond. *Microbes and Infection*, 10: 1005-1009

ORTOLANI, ENRICO LIPPI. *Brucelose: como anda seu controle no Brasil. DBO: a revista de negócios da pecuária.* São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. 2019 <https://repositorio.usp.br/item/002932293>

PONGANIS PJ (2008). "Sistema circulatório. Desenvolvimento pré-natal de cetáceos", in *Encyclopedia of Marine Mammals* , 2nd Edn, eds Perrin WF, Würsing B., Thewissen JGM (New York: Academic Press; ), 230–234

PORTE, F., NAROENI, A., OUAHRANI-BETTACHE, S., & LIAUTARD, J.-P. (2003). *Role of the Brucella suis Lipopolysaccharide O Antigen in Phagosomal Genesis and*

*in Inhibition of Phagosome-Lysosome Fusion in Murine Macrophages. Infection and Immunity*, 71(3), 1481–1490. doi:10.1128/iai.71.3.1481-1490.2003

REIS, L. B. Avaliação dos mecanismos imunológicos envolvidos na imunomodulação induzida pela bactéria *Brucella abortus*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade de Juiz de Fora, Juiz de Fora, p.92. 2015

ROCCA, M. P. Pesquisa de infecção por *Brucella spp.* em botos-vermelhos (*Inia geoffrensis*) de vida livre, procedentes da reserva de desenvolvimento sustentável de Mamirauá, Tefé, Amazonas, Brasil. [Detection of *Brucella spp.* in free-living Amazon river dolphin (*Inia geoffrensis*) in Mamiraua Reserve, in Tefé, Amazonas, Brazil]. 2014. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

ROMANO, TA, FELTEN, SY, OLSCHOWKA, JA E FELTEN, DL (1993), Uma investigação microscópica dos órgãos linfóides da beluga, *Delphinapterus leucas* . J. Morphol., 215: 261-287. <https://doi.org/10.1002/jmor.1052150307>

SÁ, J. C. D. (2011). *Papel do sistema de secreção tipo IV (SST4) na internalização e sobrevivência de Brucella, lisa e rugosa: infecção in vitro e in vivo* (Doctoral dissertation, UEMA).

SAMARTINO, L. E.; ENRIGHT, F. M. *Brucella abortus* differs in the multiplication within bovine chorioallantoic membrane explants from early and late gestation. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, v.19, p.55-63, 1996.

SANGARI FJ, SEOANE A., RODRIGUEZ MC, AGÜERO J. E LOBO JM GARCIA. 2007. caracterização do operon urease de *Brucella abortus* e avaliação de seu papel na virulência da bactéria . *Infectar. Immun.* 75 ( 2 ): 774-780.

SELEEM MN, BOYLE SM E SRIRANGANATHAN N.. 2008. *Brucella* : Um patógeno sem genes de virulência clássicos . *Veterinario. Microbiol.* 129 ( 1–2 ): 1–14.

SILVA T.M., PAIXÃO T.A., COSTA E.A., XAVIER M.N., SÁ J.C., MOUSTACAS V.S., DEN HARTIGH A.B., CARVALHO NETA A.V., OLIVEIRA S.C., TSOLIS R., SANTOS R.L.. Putative ATP-binding cassette transporter is essential for *Brucella ovis* pathogenesis in mice. *Infect Immun.* 2011 Apr;79(4):1706-17. doi: 10.1128/IAI.01109-10. Epub 2011 Feb 7. PMID: 21300772; PMCID: PMC3067543.

SILVA, F. M. O. Morphology and ultrastructure of lymphoid organs in Cetaceans (Order Cetacea, Suborder Odontoceti). [Morfologia e ultra-estrutura dos órgãos linfóides de cetáceos (Ordem Cetacea, Subordem Odontoceti)]. 2014. 62f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

SOUSA GP, SOARES RM, BORGES JCG, BRITO APD, OLIVEIRA DCR, FAITA T, ATTADEMO FLN, LUNA FO, DE OLIVEIRA REM, FREITAS CIA, VERGARA-PARENTE JE, KEID LB. *Brucella* Infection Investigation in Cetaceans and Manatees in Northeast Brazil. *J Aquat Anim Health.* 2021 Sep;33(3):125-132. doi: 10.1002/aah.10129. Epub 2021 Jun 14. PMID: 34121245.

SOUSA, GLÁUCIA PEREIRA DE. Investigação de infecções por Brucella e Morbillivirus em cetáceos e sirênios nas regiões Norte e Nordeste do Brasil. 2019. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, University of São Paulo, São Paulo, 2019. doi:10.11606/D.10.2020.tde-20122019-112623.

SOUZA, FABIANE GONÇALVES DE. *Desenvolvimento E Avaliação Da Virulência Residual De Uma Cepa Mutante De Brucella Abortus*. 2009.

TRYLAND M, KLEIVANE L, ALFREDSSON A, KJELD M, ARNASON A, STUEN S, GODFROID J. Evidence of Brucella infection in marine mammals in the North Atlantic Ocean. *Vet Rec*. 1999 May 22;144(21):588-92. doi: 10.1136/vr.144.21.588. PMID: 10378290.

UENO, Y., YANAGISAWA, M., KINO, S., SHIGENO, S., OSAKI, M., TAKAMATSU, D., KATSUDA, K., MARUYAMA T., OHISHI, K. (2020). *Molecular characterization of Brucella ceti from a bottlenose dolphin (Tursiops truncatus) with osteomyelitis in the western Pacific. Journal of Veterinary Medical Science, 82(6), 754–758.*  
doi:10.1292/jvms.20-0015

WHATMORE AM, DAWSON C, MUCHOWSKI J, PERRETT LL, STUBBERFIELD E, KOYLASS M, FOSTER G, DAVISON NJ, QUANCE C, SIDOR IF, FIELD CL, ST LEGER J. Characterisation of North American Brucella isolates from marine mammals. *PLoS One*. 2017 Sep 21;12(9):e0184758. doi: 10.1371/journal.pone.0184758. PMID: 28934239; PMCID: PMC5608248.