

Atualização em Tuberculose Bovina

Lívia dos Santos Russi¹

Flávio Ribeiro de Araújo²

Ana Luíza Alves Rosa Osório³

Kláudia dos Santos Jorge⁴

Carlos Alberto do Nascimento Ramos⁵

Grácia Maria Soares Rosinha⁶

Cleber Oliveira Soares⁷

Introdução

A tuberculose bovina é uma doença infecto-contagiosa de evolução crônica, causada por *Mycobacterium bovis*, caracterizada pela formação de lesões granulomatosas. Possui uma das mais amplas cadeias de hospedeiros, afetando animais de exploração zootécnica, de companhia, silvestres e de zoológico, além do homem (O'REILLY; DABORN, 1995).

Apresenta distribuição mundial e no Brasil está disseminada em todo território nacional, embora sua prevalência e distribuição regional não estejam bem caracterizadas (ABRAHÃO et al., 2005). No período de 1989 a 1998 a prevalência média nacional de animais infectados era oficialmente de 1,3%; entretanto, estudos independentes realizados principalmente na região Sudeste do Brasil apontaram uma prevalência entre 6,8 a 32% (LILENBAUM, 2000).

Esta doença causa significativas perdas econômicas, estimadas em 10% para a produção leiteira e 20% para a produção da carne bovina brasileira (PINTO et al., 2002). Estes prejuízos estão vinculados às perdas resultantes da morte de animais, à redução dos índices zootécnicos e às condenações de carcaças em frigoríficos sob inspeção sanitária (SALAZAR; GUIMARÃES, 2006). Além disso, a presença da enfermidade nos rebanhos torna os produtos vulneráveis às barreiras sanitárias impostas pelo mercado internacional (MICHEL et al., 2009). Supõe-se que os prejuízos à pecuária mundial atribuídos a esta doença estejam em torno de U\$ 3 bilhões/ano (LAGE et al., 1998).

Devido à capacidade zoonótica da doença, sua importância no âmbito econômico e da saúde pública, há risco iminente à saúde humana, seja na forma de doença ocupacional, ou através do consumo de produtos de origem animal contaminados com

¹ Médica-Veterinária, M.Sc., bolsista do CNPq na Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, livia@cnpqc.embrapa.br

² Médico-Veterinário, Ph.D. em Imunologia, pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, flavio@cnpqc.embrapa.br

³ Médica-Veterinária, Ph.D., bolsista DCR/Fundect na Embrapa Pantanal, Corumbá, MS, analudmv@nin.ufms.br

⁴ Médica-Veterinária, M.Sc., Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, ksantos@nin.ufms.br

⁵ Médico-Veterinário, M.S., doutorando Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, carlosanramos@yahoo.com.br

⁶ Engenheira-Agrônoma, Ph.D. em Biquímica, pesquisadora da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, rosinha@cnpqc.embrapa.br

⁷ Médico-Veterinário, Ph.D. em Ciências Veterinárias, pesquisador da Embrapa Gado de Corte, bolsista do CNPq, Campo Grande, MS, cleber@cnpqc.embrapa.br

o bacilo, especialmente leite e carne, bem como seus derivados, consumidos *in natura*, provenientes especialmente do comércio clandestino (ABRAHÃO et al., 2005).

Sob esta perspectiva, o objetivo deste estudo é apresentar uma atualização acerca da tuberculose bovina, abordando suas características epidemiológicas, medidas de diagnóstico e controle.

Etiologia

Mycobacterium bovis é a causa mais comum da tuberculose em bovinos (NIEMANN et al., 2000). A bactéria é relativamente resistente aos desinfetantes e requer longo período de contato para inativação (BRENNAN; NIKAIDO, 1995). É sensível ao fenol 5%, soluções a base de iodo, glutaraldeído e formaldeído (ABRAHÃO, 1999). Em ambientes com baixa concentração de material orgânico o uso de hipoclorito de sódio 1% com um longo período de contato pode ser efetivo (O'REILLY; DABORN, 1995). Também é pouco resistente ao calor, sendo suscetível ao calor úmido (121 °C) por um período mínimo de 15 minutos (CFSPH, 2007). A pasteurização do leite, utilizando temperatura de 62,8 a 65,6 °C por 30 minutos ou 71,7 °C por 15 segundos também é eficiente para eliminar este microorganismo (ROXO, 1997).

Epidemiologia

Os bovinos são os hospedeiros primários do bacilo (ABRAHÃO, 1999). Entretanto, esta micobactéria apresenta um amplo espectro de patogenicidade, acometendo outros animais de produção, como pequenos ruminantes, eqüinos, suínos e búfalos, além de animais domésticos, silvestres e o próprio homem (O'REILLY; DABORN, 1995). Pouco se sabe sobre a resistência dos pássaros, mas acredita-se que eles sejam resistentes a *M. bovis* (CFSPH, 2007).

Transmissão

O bovino infectado pelo bacilo pode eliminar o agente através da respiração, secreções e excreções (SALAZAR; GUIMARÃES, 2006). Por isso, a inalação do bacilo é a rota mais provável e mais importante na infecção de bovinos (MICHEL et al., 2009). Estes bacilos não são excretados apenas por bovinos com lesões pulmonares abertas, mas

também por animais no período inicial da infecção (MODA et al., 1996). Gotículas de água contaminada, aerossóis produzidos pela eructação durante a ruminação de pastos contaminados e partículas de poeira, embora sejam menos comuns, também têm sido implicadas como caminhos alternativos de infecção pela via aerógena (BIET et al., 2005).

A ingestão do bacilo é considerada secundária à propagação respiratória (POLLOCK; NEILL, 2002). Pode ocorrer pela ingestão de leite contaminado, proveniente de vacas com infecções subclínicas no úbere (O'REILLY; DABORN, 1995), sendo mais comum em animais jovens (POLLOCK et al., 2006). Também pode ocorrer pelo consumo de pastagens, alimentos ou água contaminados com secreções ou excreções de animais infectados (POLLOCK; NEILL, 2002).

Os bacilos podem permanecer viáveis no solo por cerca de seis meses; na água por até um ano, no pasto por até dois anos, nas fezes por quatro a cinco meses e nos produtos de origem animal por até 10 meses (O'REILLY; DABORN, 1995, PHILLIPS et al., 2003, SALAZAR; GUIMARÃES, 2006). Esta resistência depende da temperatura ambiente e da condição de proteção que o ambiente oferece para estes materiais.

A persistência do agente depois da morte de hospedeiros selvagens pode ser fonte da infecção para os animais domésticos, que consomem o capim contaminado com resto da carcaça disponível no local de decomposição. O período de tempo que *M. bovis* pode ser recuperado das carcaças com tuberculose depende da velocidade da putrefação e de decomposição (MORRIS et al., 1994). Numa carcaça deixada no pasto o nível de infecção baixa nitidamente após duas semanas, e após quatro semanas o bacilo não pode mais ser recuperado (O'REILLY; DABORN, 1995).

A excreção do bacilo nas fezes é irregular tem sido associada com a ingestão de exsudato infeccioso do trato respiratório (POLLOCK; NEILL, 2002). A proporção de bovinos fortemente infectados por *M. bovis* que excretam o organismo nas fezes é tipicamente 10%, mas pode chegar a 80% segundo REUSS (1955) citado por PHILLIPS et al. (2003).

As fezes são menos prováveis de oferecerem risco de infecção que a urina para o gado porque são

mais localizadas (O'REILLY; DABORN, 1995). Entretanto, as características comportamentais dos bovinos podem torná-los mais susceptíveis à infecção a partir destes materiais, porque os animais com menor *ranking* na disposição hierárquica do rebanho são mais propensos a pastear próximo aos locais com acúmulos de excretas, por não terem acesso a pastos de melhor qualidade (PHILLIPS et al., 2003).

A transmissão genital pode ocorrer se os órgãos reprodutivos forem acometidos, mas isto é extremamente raro (PHILLIPS et al., 2003). Também pode ocorrer transmissão via intra-uterina devido a sêmen contaminado (POLLOCK; NEILL, 2002). A transmissão vertical pode ocorrer congenitamente através dos vasos umbilicais, como um resultado da infecção uterina da mãe; considera-se que aproximadamente 1% dos bezerros de vacas tuberculosas sejam infectados por esta via (O'REILLY; DABORN, 1995).

Outras formas de infecção podem ocorrer através de lambedura em atividades de limpeza corporal (*grooming*), fômites contaminados e pela própria movimentação dos animais, esta última sendo uma causa importante de estresse, que pode comprometer a imunidade do hospedeiro (PHILLIPS et al., 2003).

Os bovinos podem transmitir a doença para animais selvagens principalmente pela via aerógena; estes, por sua vez, podem transmiti-las para outros animais selvagens também pela mesma via ou pela via oral, através do consumo de carcaças contaminadas (O'REILLY; DABORN, 1995). Os bovinos também podem transmitir os bacilos para animais domésticos pela via aerógena ou por meio do consumo de leite ou vísceras contaminados (ABRAHÃO, 1999).

Fatores predisponentes

Considera-se que os bovinos zebuínos são mais resistentes que os taurinos, e os efeitos da doença são muito menos severos para os primeiros, embora em condições intensivas de confinamento a taxa de morbidade possa chegar a 60% neste grupo de animais (O'REILLY; DABORN, 1995). A idade dos animais também parece interferir na resistência, fazendo com que a doença seja mais comum em animais mais velhos (O'REILLY; DABORN, 1995). Adicionalmente, fatores como deficiências nutricionais, estresse, gestação e infecções virais imu-

nossupressoras, como diarreia viral bovina, podem influenciar as respostas imunes e diminuir a resistência à infecção, provocando uma rápida progressão da doença (POLLOCK; NEILL, 2002).

Sistemas intensivos de criação facilitam o íntimo contato entre animais e favorecem a disseminação de doenças respiratórias (POLLOCK et al., 2006). Sob condições extensivas, características de manejo como aglomeração de animais de diferentes origens em pontos de bebedouro ou alimentação pode levar a um aumento da transmissão da infecção (O'REILLY; DABORN, 1995). A existência de reservatórios na vida silvestre também pode favorecer a transmissão do agente para os bovinos (MICHEL et al., 2009).

A importância da tuberculose bovina como zoonose

A tuberculose bovina é uma importante zoonose que pode se espalhar entre os humanos por meio da inalação de aerossóis ou pela ingestão de leite não pasteurizado e/ou produtos cárneos crus contaminados (THOEN et al., 2006). Não há registros de infecção humana a partir de uma fonte ambiental direta (BIET et al., 2005)

Diferenças na apresentação clínica da tuberculose humana relacionada com o *M. bovis* dependem da via de transmissão (MODA et al., 1996). Embora *M. bovis* mostre uma baixa tendência em se reativar, uma vez estabelecido no pulmão ele é tão virulento quanto o bacilo humano (O'REILLY; DABORN, 1995). Em seres humanos, casos de doença pulmonar associadas com cepas bovinas e humanas são indistinguíveis clinicamente, radiologicamente e patologicamente (MODA et al., 1996).

Os sintomas podem incluir febre vespertina, emagrecimento, fadiga, dor no tórax, suores noturnos, astenia, tosse com expectoração e hemoptise (ABRAHÃO, 1999). A tuberculose pulmonar que se desenvolve durante os primeiros cinco anos seguintes à infecção primária é classificada como tuberculose primária. Já as infecções pulmonares diagnosticadas com mais do que cinco anos são classificadas como secundárias e são consideradas mais infecciosas (O'REILLY; DABORN, 1995).

A tuberculose pulmonar causada por este agente é considerada uma doença ocupacional (ABRAHÃO,

1999), de modo que tratadores de rebanhos, ordenhadores, trabalhadores da indústria da carne, veterinários e membros da comunidade rural que vivem em íntimo contato com animais estariam mais expostos à infecção (ABRAHÃO et al., 2005).

Dados do *Piedmont Regional Working Group of Bovine Tuberculosis* de 1992 apresentados por MODA et al. (1996) mostraram que uma investigação entre veterinários trabalhando com rebanhos infectados mostrou altos índices de tuberculina positiva (45,4%) e tuberculose evidente (4,1%), embora não tenha sido estabelecido se tal infecção estava associada com *M. bovis*.

A via alimentar normalmente resulta em formas extra-pulmonares de tuberculose, podendo se estabelecer nos linfonodos cervicais e menos frequentemente nos axilares, uma condição denominada escrófula, mais comum em crianças que consomem leite não pasteurizado (O'REILLY; DABORN, 1995). Também acomete o trato intestinal, rins, ossos, articulações e sistema nervoso central (MODA et al., 1996). A infecção através de feridas da pele causa lesões cutâneas, de tendões e linfonodos (MODA et al., 1996).

A proporção de casos humanos mostra grande variação regional dependendo da presença e extensão da doença na população de bovinos, situação econômica e social, o padrão de higiene alimentar e a aplicação de medidas preventivas (ABRAHÃO, 1999). A incidência do bacilo bovino em humanos é maior nas áreas rurais com rebanhos infectados (MODA et al., 1996).

A transmissão do bacilo a partir de humanos para bovinos é geralmente direta e pela via respiratória, mas a disseminação indireta através de forragem e/ou feno contaminado com urina de humanos infectados no trato renal foi registrado nos Países Baixos e Alemanha (O'REILLY; DABORN, 1995). A transmissão entre seres humanos é um evento raro e ocorre principalmente pela via aerógena, sendo mais importante entre indivíduos imunossuprimidos (ABRAHÃO et al., 2005). Os animais silvestres podem infectar-se através dos seres humanos pela via aerógena, assim como os animais domésticos, que também podem contaminar-se pelo consumo de leite cru e carne ou vísceras não cozidas (ABRAHÃO, 1999).

Com relação ao leite, sabe-se que a produção de leite de vaca ultrapassou 20 bilhões de litros em 2006, com a maior parte sendo produzida em pequenas propriedades (IBGE, 2008). Por ser tão rico em nutrientes, este produto é suscetível ao ataque de um grande número de microorganismos do meio ambiente, do próprio animal, do homem e dos utensílios utilizados na ordenha (ABRAHÃO et al., 2005).

O emprego do processo de pasteurização de leite, entretanto, ainda é uma realidade distante em muitos países em desenvolvimento. Estima-se que 90% do leite produzido nos países africanos, da região sub-Saária, são consumidos *in natura* ou em forma de coalhada (ABRAHÃO, 1999).

No Brasil, a proibição da comercialização de leite cru está estabelecida na Lei nº 1.283 de 18/12/1950 e no Decreto nº 30.691, de 29/03/1952. Este decreto determina no seu Art. 486, inciso III que "*Só se permite o aproveitamento de leite de vaca, de cabra, da ovelha e de outras espécies, quando (...) não reajam à prova de tuberculose (tuberculina) nem apresentem reação positiva às provas do diagnóstico da brucelose, obedecidos aos dispositivos da legislação em vigor*". O Art. 489 do mesmo decreto ainda estabelece que "*São obrigatórias as provas biológicas para diagnósticos de tuberculose e brucelose, praticadas tantas vezes quantas necessárias nos estabelecimentos que produzem leite tipo 'A' e 'B', e, conforme o caso, naqueles que produzem outros tipos de leite. Essas provas só podem ser feitas por veterinário oficial ou por veterinário particular habilitado que obedeça integralmente aos planos oficialmente adotados*".

Contudo, segundo Nero et al. (2004), a venda ilegal de leite cru no varejo para o consumo humano ainda representa um mercado alternativo importante porque há um consumo bem estabelecido no país, tanto por suas características organolépticas como pelo baixo preço. Segundo estes autores, 35,6 a 42% do leite produzido no Brasil em 1998 e 2001 não foram inspecionados por nenhuma autoridade sanitária federal, estadual ou municipal.

Estes resultados são muito preocupantes, especialmente se considerarmos que o leite é a principal fonte de infecção de *M. bovis* para os humanos. Pardo et al. (2001) analisaram 780 amostras de

leite de 52 vacas positivas ou suspeitas ao teste tuberculínico, provenientes de 6 propriedades produtoras de leite no Estado de São Paulo. Foram isoladas micobactérias em 78 amostras (10%) de 19 animais (36,5%) que continham *M. bovis* (5,3%), *M. avium* (5,3%), *M. fortuitum* (10,5%) e *Mycobacterium* sp. (78,9%).

Assim como o leite, a carne e seus derivados estão sujeitos a alterações ocasionadas pelas próprias enzimas tissulares e pela atividade microbiana, atuando como um veículo potencial de contaminantes de natureza física, química e biológica (ABRAHÃO et al., 2005).

O risco de se contrair *M. bovis* pela ingestão de carne contaminada é relativamente incomum devido à baixa incidência do agente em tecidos musculares e o hábito de não se comer carne crua em muitos países (SALAZAR; GUIMARÃES, 2006). Entretanto, esta fonte não deve ser ignorada, especialmente quando se considera o grande número de abates clandestinos de animais positivos descartados (ABRAHÃO et al., 2005).

Relativo a esta informação, embora o Brasil detenha o maior rebanho bovino comercial do mundo, com aproximadamente 172 milhões de cabeças (IBGE, 2008), sendo o principal exportador de carne bovina *in natura*, estima-se que o abate clandestino coloque no mercado varejista cerca de 30% da carne bovina comercializada (REIS et al., 2001), podendo chegar a 60% em locais com menor fiscalização (ABRAHÃO et al., 2005).

As principais causas de tuberculose associada a *M. bovis* atualmente, segundo THOEN et al. (2006) estão associadas à: re-emergência desta infecção em humanos em regiões onde a tuberculose bovina ainda é prevalente; ocorrência da doença em função de reativação ou infecção primária em pacientes imunossuprimidos (HIV positivos, por exemplo), com surtos de cepas resistentes; epizootias em animais domésticos e silvestres que podem transmitir a infecção para o ser humano e forma respiratória adquirida como doença ocupacional em trabalhadores de fazendas e da indústria da carne.

Dados sobre a prevalência da tuberculose humana causada pelo *M. bovis* são desconhecidos em muitas regiões (ABRAHÃO, 1999). No Brasil, estima-se

que ocorreram 80.000 novos casos de tuberculose em humanos em 2007 (CIMIERI, 2009). Dados da Organização Mundial da Saúde (WHO, 1993 citado por ARAÚJO et al., 2005) estimam que a infecção por *M. bovis* possa ser responsável por cerca de 5% dos casos de tuberculose humana no país.

Sinais clínicos

Em geral, os sintomas da tuberculose bovina não são bem característicos e os animais infectados podem permanecer assintomáticos até o estágio terminal da doença, adoecendo apenas em situações de estresse, idade avançada ou quando desenvolvem alguma outra doença crônica, debilitante e fatal (CFSPH, 2007). Entretanto, podem tornar-se infecciosos muito antes de exibirem qualquer sinal ou lesões típicas (DE LA RUA-DOMENECH et al., 2006), representando um risco para a saúde de outros animais e do homem.

Os sintomas dependem dos órgãos acometidos (ABRAHÃO, 1999), mas em geral os bovinos infectados apresentam perda de peso crônica, apetite variável e febres flutuantes, que podem ser acentuadas após o parto; os sintomas respiratórios, embora mais comuns, tendem a ser mais brandos e compreendem tosse crônica suave e úmida, dispnéia, taquipnéia e hiperpnéia; linfonodos mediastínicos quando aumentados de volume podem causar obstruções intestinais, ulcerações e diarreias; o envolvimento de linfonodos retrofaríngeos pode causar dificuldades na deglutição e salivacão e também podem ser encontradas lesões em outros linfonodos periféricos, glândula mamária e mais raramente no trato reprodutivo, causando infertilidade, abortamento, metrite e vaginite (SMITH, 1993).

Diagnóstico

A detecção precoce do agente causal em animais de produção é importante para a eliminação dos animais infectados do rebanho e adotar medidas adequadas reduzir o risco imposto pelos produtos animais que podem ser fontes de infecção para humanos (KÄSER et al., 2009).

O diagnóstico pelo exame físico é difícil, uma vez que os sintomas ocorrem apenas em estágios avançados da enfermidade e podem ser confundidos com outras doenças (RIET-CORREA; GARCIA, 2007). O desenvolvimento de lesões visíveis

no exame *post-mortem* é uma consequência das respostas imunes e representa os estágios mais avançados da doença (GORMLEY et al., 2006). Entretanto, tem sido relatada a presença de micobactérias em bovinos mesmo na ausência de lesões anatomopatológicas, tornando insuficiente a análise macroscópica dos órgãos (PINTO et al., 2002).

Em geral, outros métodos de diagnóstico são utilizados em conjunto com o exame dos órgãos. Estes métodos incluem a histopatologia (CASSIDY et al., 1999) e a cultura de bactérias a partir de amostras clínicas como tecidos, muco nasal, leite, sangue e amostras ambientais (DE LA RUA-DOMENECH et al., 2006). Entretanto, devido ao tempo consumido por estes testes, eles têm sido substituído por métodos baseados na detecção de DNA, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) (SALAZAR; GUIMARÃES, 2006).

Testes de imunidade celular são amplamente utilizados no diagnóstico da tuberculose bovina e podem identificar animais infectados mais precocemente (POLLOCK et al., 2005). Dentre estes testes, destacam-se o teste da tuberculina e o ensaio de IFN- γ . Outros testes têm sido desenvolvidos, mas sua aplicação ainda permanece restrita ao campo experimental (DE LA RUA-DOMENECH et al., 2006).

Tuberculinização

A tuberculinização é o método mais freqüentemente usado, fornecendo uma medida da resposta celular através de reações de hipersensibilidade tardia desencadeadas frente à injeção de tuberculinas, um extrato bruto obtido a partir de culturas de micobactéria (POLLOCK et al., 2006).

Estes derivados protéicos purificados (PPD) formam uma mistura complexa de proteínas, lipídios, açúcares e ácidos nucléicos, apresentando, portanto, uma grande variedade de antígenos, o que contribui para a ocorrência de reações inespecíficas neste teste (ALMEIDA et al, 2006). São utilizados dois tipos de tuberculinas: o PPD bovino, que corresponde ao extrato antigênico de proteínas purificadas, derivadas da amostra AN5 de *M. bovis*, e o PPD aviário, sintetizado a partir da amostra D4 de *M. avium* (SALAZAR; GUIMARÃES, 2006).

Segundo a Instrução Normativa SDA nº 06, de 08 de janeiro de 2004, do Ministério da Agricultura,

Pecuária e Abastecimento (Mapa), que instituiu o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal – PNCEBT (BRASIL, 2004), este teste deve ser utilizado apenas em bovinos e bubalinos com idade igual ou superior a seis semanas e devem ser realizados por médicos veterinários habilitados. Fêmeas submetidas ao teste no intervalo de 15 dias antes do parto até 15 dias após o parto deverão ser retestadas entre 60 a 90 dias após o parto, pois há uma relativa hipossensibilidade neste período, provavelmente em decorrência da reduzida atividade imunológica associada ao parto (DE LA RUA-DOMENECH et al., 2006).

O Teste Cervical Simples (TCS) é o teste de rotina recomendado, devendo ser realizado com inoculação intradérmica de tuberculina PPD bovina, na dosagem de 0,1 ml, na região cervical ou na região escapular de bovinos, sempre de um mesmo lado em todos os animais do estabelecimento de criação. Este local de inoculação será demarcado por tricotomia e a espessura da dobra da pele neste local será medida com cutímetro antes da inoculação. Após 72 ± 6 horas da inoculação, será realizada nova medida no local da inoculação e o aumento da espessura da dobra da pele será calculado subtraindo-se as duas medidas (ΔB). Os resultados devem ser interpretados conforme a tabela abaixo (Tabela 1). Animais reagentes inconclusivos poderão ser submetidos a um teste confirmatório, em um intervalo de 60 a 90 dias ou ser considerados positivos e destinados ao abate sanitário (BRASIL, 2004).

Este intervalo mínimo para repetição do teste visa evitar a ocorrência de resultados falso-negativos, uma vez que após a tuberculinização ocorre a dessensibilização do animal, na qual há uma diminuição na capacidade de responder a novos testes (BUDDLE et al., 2009).

O Teste da Prega Caudal (TPC) pode ser utilizado como teste de rotina, exclusivamente em estabelecimentos de criação especializados na pecuária de corte. A tuberculina bovina será inoculada por via intradérmica na dosagem de 0,1 ml, seis a dez centímetros da base da cauda, na junção das peles pilosa e glabra, de um mesmo lado da prega caudal de todos os animais do estabelecimento de criação. A leitura e interpretação dos resultados serão realizadas 72 ± 6 horas após a inoculação da tuberculina, comparando-se a prega inoculada com a prega do

lado oposto, por avaliação visual e palpação. Neste caso, qualquer aumento de espessura na prega inoculada classificará o animal como reagente. Nestes casos, poderão ser submetidos a teste confirmatório, num intervalo de 60 a 90 dias ou destinados ao abate sanitário (BRASIL, 2004).

A interpretação destes dois testes está baseada no fato de que quando a tuberculina é injetada na pele de um animal não sensibilizado por antígenos micobacterianos, não há uma resposta inflamatória local

significativa. Entretanto, se a tuberculina for injetada em um animal cujo sistema imune tenha sido sensibilizado por uma infecção com *M. bovis* ou por outras micobactérias, isso desencadearia uma resposta inflamatória que produziria o intumescimento no local da injeção. Esta resposta de hipersensibilidade tardia é mediada por uma população de células T sensibilizadas e leva algumas semanas para se desenvolver após a infecção (DE LA RUA-DOMENECH et al., 2006).

Tabela 1. Interpretação do Teste Cervical Simples em bovinos, conforme a Instrução Normativa SDA nº 06, de 08 de janeiro de 2004, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

ΔB (mm)	Características da reação			Interpretação
	Sensibilidade	Consistência	Outras	
0,0 a 1,9	-	-	-	Negativo
2,0 a 3,9	Pouca dor	Endurecida	Delimitada	Inconclusivo
2,0 a 3,9	Muita dor	Macia	Exsudato, necrose	Positivo
> 4,0	-	-	-	Positivo

O teste confirmatório para ambos os testes anteriores é o Teste Cervical Comparativo (TCC), também recomendado como teste de rotina para estabelecimentos de criação com ocorrência de reações inespecíficas, estabelecimentos certificados como livres e para estabelecimentos de criação de bubalinos. As tuberculinas aviária e bovina serão inoculadas por via intradérmica, na dosagem de 0,1 mL, na região cervical ou na região escapular, a uma distância entre as duas inoculações de 15 a 20 cm, sendo a PPD aviária inoculada cranialmente e a PPD bovina caudalmente, sempre de um mesmo lado em todos os animais do estabelecimento de criação. A leitura e interpretação dos resultados serão realizadas 72 ± 6 horas e o aumento da espessura da dobra da pele será calculado subtraindo-se as medidas das duas inoculações para cada tuberculina separadamente e em seguida subtraindo estes resultados entre si (ΔB , que é diferença para as duas inoculações da tuberculina bovina menos a ΔA , que é a diferença para as duas inoculações da tuberculina aviária). Os resultados do teste comparativo serão interpretados de acordo com tabela abaixo (Tabela 2). Os animais reagentes inconclusivos poderão ser submetidos a um segundo teste cervical comparativo, num intervalo mínimo de 60 dias entre os testes ou destinados ao abate sanitário e aqueles que apresentarem dois resultados inconclusivos consecutivos serão classifi-

cados como reagentes positivos (BRASIL, 2004).

A interpretação do teste comparativo está baseada no fato de que bovinos infectados com *M. bovis* tendem a apresentar uma maior resposta à tuberculina bovina do que à aviária, enquanto que infecções com outras micobactérias promovem a relação inversa (POLLOCK et al, 2005). Deste modo, o teste permite uma melhor discriminação entre os animais infectados com *M. bovis* e aqueles expostos a organismos do complexo *M. avium-intracellulare* ou micobactérias ambientais não patogênicas (SMITH, 1993).

Tabela 2. Interpretação do Teste Cervical Comparativo em bovinos, conforme a Instrução Normativa SDA nº 06, de 08 de janeiro de 2004, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

	$\Delta B - \Delta A$ (mm)	Interpretação
$\Delta B < 2,0$	-	Negativo
$\Delta B < \Delta A$	< 0	Negativo
$\Delta B \geq \Delta A$	0,0 a 1,9	Negativo
$\Delta B > \Delta A$	2,0 a 3,9	Inconclusivo
$\Delta B > \Delta A$	$\geq 4,0$	Positivo

Animais com tuberculose avançada podem desenvolver o fenômeno da anergia, que se caracteriza pela ausência de reatividade ao teste cutâneo tuberculínico, produzindo resultados falso-negativos (GORMLEY et al., 2006). Este fenômeno também pode ser observado em casos em que a infecção pelo *M. bovis* ocorreu há menos de 40 dias e em fêmeas no período compreendido entre 30 dias antes e 30 dias depois do parto (SALAZAR; GUIMARÃES, 2006).

Animais reagentes ao teste tuberculínico que não apresentam lesões visíveis podem ser um indicativo de: animais em estágios iniciais de infecção, nos quais os granulomas são muito pequenos ou pouco freqüentes para serem detectados nos exames *post-mortem*; animais infectados com *M. bovis*, mas sem doença, ou seja, temporariamente capazes de conter o bacilo em uma condição de latência; ou ainda animais não infectados, expostos a antígenos de micobactérias ambientais que produzem reações cruzadas no teste. Estes últimos são considerados falso-positivos e em geral não têm lesões visíveis (DE LA RUA-DOMENECH et al., 2006).

Medidas de controle

As medidas de controle e erradicação da tuberculose bovina devem interromper a transmissão da doença com ações específicas para o controle das fontes de infecção, das vias de transmissão e dos animais suscetíveis (SALAZAR; GUIMARÃES, 2006).

A Instrução Normativa SDA nº 06, de 08 de janeiro de 2004 (BRASIL, 2004) determina que os animais reagentes positivos ao teste da tuberculinização deverão ser imediatamente isolados da produção leiteira e de todo o rebanho, sendo sacrificados no prazo máximo de 30 dias após o diagnóstico, em estabelecimento sob serviço de inspeção oficial, indicado pelo serviço de defesa oficial federal ou estadual. Para o saneamento das propriedades, os testes em todo o rebanho deverão repetidos até obter três resultados sem um único animal reagente positivo, ao longo de um período mínimo de nove meses. Uma vez saneada, a propriedade obtém o certificado de livre, e a manutenção desse status depende do cumprimento de todas as regras e normas sanitárias estabelecidas.

Entretanto, em virtude da dificuldade de aplicação destas normas técnicas nas grandes propriedades que exploram a pecuária de corte, criou-se a certificação de propriedade monitorada, também de adesão voluntária. Neste caso, os testes diagnósticos são realizados por amostragem a cada dois anos e se não forem detectados animais reagentes positivos, a propriedade recebe o atestado; caso contrário, os animais não incluídos na amostragem inicial serão submetidos à tuberculinização e todos os animais reagentes positivos deverão ser sacrificados.

No caso dos produtos de origem animal, o Decreto 30.691 de 29 de março de 1952, que institui o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA determina que os animais tuberculosos devam ser submetidos à condenação total, compreendendo carcaças e vísceras, nas seguintes situações: animal febril no exame *ante-mortem*; tuberculose acompanhada de anemia ou caquexia; presença de alterações tuberculosas nos músculos, nos tecidos intramusculares, nos ossos (vértebras) ou nas articulações ou, ainda, nos gânglios linfáticos associados; presença de lesões caseosas concomitantemente em órgãos torácicos e abdominais, com alteração de suas serosas; presença de lesões miliares em parênquimas ou serosas; presença de lesões múltiplas, agudas e ativamente progressivas, com inflamação aguda nas proximidades das lesões, necrose de liquefação ou presença de tubérculos jovens e ainda quando existir tuberculose generalizada, na qual também são encontradas lesões outros órgãos como baço, rins, útero, ovário, testículos, cápsulas suprarenais, cérebro e medula espinhal ou suas membranas, ou tubérculos numerosos uniformemente distribuídos em ambos os pulmões.

O mesmo Decreto ainda determina que a rejeição parcial possa ser feita quando partes da carcaça ou órgão apresentem lesões de tuberculose; quando se trate de tuberculose localizada em tecidos imediatamente sob a musculatura, como a tuberculose da pleura e peritônio parietais; quando parte da carcaça ou órgãos se contaminarem com material tuberculoso, por contato acidental; cabeças com lesões discretas limitadas no máximo a dois gânglios; órgãos cujos gânglios linfáticos correspondentes apresentem lesões tuberculosas; intestino e mesentério com lesões discretas, confinadas a gânglios linfáticos.

O aproveitamento condicional, por esterilização pelo calor, pode ser permitido depois da remoção e condenação das partes ou órgãos alterados. Quando não houver no estabelecimento industrial instalações apropriadas para a esterilização pelo calor, tais casos são considerados de rejeição total. Entretanto, em nenhuma hipótese as carcaças poderão servir para comércio internacional.

O tratamento de bovinos tuberculosos utilizando-se isoniazida tem sido proibido em países que têm programas de controle porque ele não consegue determinar a eliminação do bacilo, podendo permitir a manutenção da fonte de infecção, além de favorecer o desenvolvimento de cepas resistentes (ROXO, 1997).

Ainda não há vacinas contra a tuberculose bovina licenciadas para uso veterinário (BUDDLE et al., 2005) e o seu uso também não foi preconizado em nenhum programa de controle em virtude da inexistência de exames diagnósticos capazes de diferenciar animais infectados ou vacinados (ROXO, 1997).

Conclusões

A tuberculose bovina causada por *Mycobacterium bovis* é uma doença crônica, caracterizada pela formação de lesões granulomatosas, que pode afetar os animais domésticos e silvestres, determinando prejuízos econômicos. É também uma importante zoonose, transmitida ao homem por aerossóis e pelo consumo de produtos de origem animal contaminados não pasteurizados.

A detecção precoce dos animais infectados é importante para diminuir a disseminação da doença e favorecer sua erradicação, especialmente porque não há vacinas licenciadas para uso veterinário e nem se preconiza o tratamento. Os testes imunológicos podem detectar animais em fases iniciais da infecção, mas o diagnóstico *post-mortem*, para observação das lesões sugestivas, associado ao cultivo do bacilo também tem sido utilizado. Métodos moleculares têm sido avaliados para permitir uma diferenciação entre as bactérias que formam o complexo *Mycobacterium tuberculosis*, permitindo maior rapidez no diagnóstico e melhor compreensão da importância zoonótica de *M. bovis*.

Referências

- ABRAHÃO, R. M. C. M. Tuberculose humana causada pelo *Mycobacterium bovis*: considerações gerais e a importância dos reservatórios animais. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 5-15. 1999.
- ABRAHÃO, R. M. C. M.; NOGUEIRA, P. A.; MALUCELLI, M. I. C. O comércio clandestino de carne e leite no Brasil e o risco da transmissão da tuberculose bovina e de outras doenças ao homem: um problema de saúde pública. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 10, n. 2, p. 1-17. 2005.
- ARAÚJO, C. P.; LEITE, C. O. F.; PRINCE, K. A.; JORGE, K. S. G.; OSÓRIO, A. L. A. R. *Mycobacterium bovis* identification by a molecular method from post-mortem inspected cattle obtained in abattoirs of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 7, p. 749-752. 2005.
- BIET, F.; BOSCHIROLI, M. L.; THOREL, M. F.; GUILLOTEAU, L. A. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). **Veterinary Research**, Paris, v. 36, n. 3, p. 411-436. 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Sanitária. Instrução normativa SDA nº 06, de 08 de janeiro de 2004, aprova o regulamento técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 jan. 2004. Seção 1, p. 6-10.
- BRENNAN, P. J.; NIKAIIDO, H. The envelope of micobactéria. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 64, p. 29-63. 1995.
- BUDDLE, B. M.; LIVINGSTONE, P. G.; LISLE, G. W. Advances in ante-mortem diagnosis of tuberculosis in cattle. **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 57, n. 4, p. 173-180. 2009.
- BUDDLE, B. M.; WEDLOCK, D. N.; DENIS, M.; SKINNER, M. A. Identification of immune response correlates for protection against bovine tuberculosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 108, p. 45-51. 2005.
- CASSIDY, J.; BRYSON, D. G.; POLLOCK, J. M.; EVANS, R. T.; FORSTER, F.; NEILL, S. D. Lesions in cattle exposed to *Mycobacterium bovis* – inoculated calves. **Journal of Comparative Pathology**, Liverpool, v. 121, p. 321-337. 1999.
- CFSPPH – The Center for Food Security & Public Health. Iowa State University. College of Veterinary Medicine. Institute for International Cooperation in Animal Biologics. **Bovine Tuberculosis**. Disponível em: www.cfspph.iastate.edu/IICAB/. Acesso em 20 nov 2009. Relatório técnico.
- CIMIARI, F. Incidência de tuberculose no Brasil diminuiu. Disponível em: <http://www.estadao.com.br/noticias/geral,correcao-incidencia-de-tuberculose-no-brasil-diminuiu,344203,0.htm>. Acesso em 23 nov 2009.

- DE LA RUA-DOMENECH, R.; GOODCHILD, A. T.; VORDERMEIER, H. M.; HEWINSON, R. G.; CHRISTIANSEN, K. H.; CLIFTON-HADLEY, R. S. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: A review of the tuberculin tests, γ -interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 81, p. 190-210. 2006.
- GORMLEY, E.; DOYLE, M. B.; FITZSIMONS, T.; MCGILL, K.; COLLINS, J. D. Diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle by use of the gamma-interferon (Bovigam®) assay. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 112, p. 171-179, 2006.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2006**. Rio de Janeiro, 2008.
- KÄSER, M.; RUF, M.; HAUSER, J.; MARSOLLIER, L.; PLUSCHKE, G. Optimized method for preparation of DNA from pathogenic and environmental micobactéria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 75, n. 2, p. 414-418. 2009.
- LAGE, A. P.; LOBATO, F. C. F.; MOTA, P. M. P. C.; GONÇALVES, V. S. P. **Atualização em tuberculose bovina**. Belo Horizonte: FEP-MVZ, 1998. 65 p.
- LILENBAUM, W. Atualização em tuberculose bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 4, p. 145-151. 2000.
- MICHEL, A. L.; MÜLLER, B.; van HELDEN, P. D. *Mycobacterium bovis* at the animal-human interface: A problem, or not? **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, 2009, doi: 10.1016/j.vetmic.2009.08.029 (no prelo).
- MODA, G.; DABORN, C. J.; GRANGE, J. M.; COSIVI, O. The zoonotic importance of *Mycobacterium bovis*. **Tubercle and Lung Disease**, Avenel, v. 77, p. 103-108. 1996.
- MORRIS, R. S.; PFEIFFER, D. U.; JACKSON, R. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 40, n. 1-2, p. 153-177. 1994.
- NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; NETTO, D. P.; PINTO, J. P. A. N.; ANDRADE, N.; SILVA, W. P.; FRANCO, B. G. M. Hazards in non-pasteurized milk on retail sale in Brazil: prevalence of *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes* and chemical residues. **Brazilian Journal of Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 3, p. 211-215, jul./set. 2004.
- NIEMANN, S.; HARMSSEN, D.; RÜSCH-GERDES, S.; RICHTER, E. Differentiation of clinical *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates by *gyrB* DNA sequence polymorphism analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 38, p. 3231-3234, 2000.
- O'REILLY, L. M.; DABORN, C. J. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. **Tubercle and Lung Disease**, Anenel, v. 76 (Supplement 1), p. 1-46, 1995.
- PARDO, R. B.; LANGONI, H.; MENDONÇA, L. J. P.; CHI, K. D. Isolation of *Mycobacterium* spp. in Milk from cows suspected or positive to tuberculosis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, p. 284-287. 2001.
- PHILLIPS, C. J. C.; FOSTER, C. R. W.; MORRIS, P. A.; TEVERSON, R. The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 74, p. 1-15. 2003.
- PINTO, P. S. A.; FARIA, J. E.; VILORIA, M. I. V.; BEVILACQUA, P. D. Exame microbiológico da tuberculose como subsídio à inspeção post-mortem de bovinos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 3, n. 1, p. 10-15. 2002.
- POLLOCK, J. M.; RODGERS, J. D.; WELSH, M. D.; McNAIR, J. Pathogenesis of bovine tuberculosis: The role of experimental models of infection. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 112, p. 141-150. 2006.
- POLLOCK, J. M.; WELSH, M. D.; McNAIR, J. Immune responses in bovine tuberculosis: Towards new strategies for the diagnosis and control of disease. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam v. 108, p. 37-43. 2005.
- POLLOCK, J. M.; NEILL, S. D. *Mycobacterium bovis* infection and tuberculosis in cattle. **The Veterinary Journal**, London, v. 163, n. 2, p. 115-127. 2002.
- REIS, D. O.; ALMEIDA, L. P.; PIMENTA, A.; VIEIRA, R. L. Zoonoses Reemergentes: um estudo com bovinos abatidos em frigorífico da região Sudeste do Brasil. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 82, p. 23-27. 2001.
- REUSS, U. Occurrence of tubercle bacilli in the faeces of tuberculin-positive cattle and its significance in pasture hygiene. **Die Rindertuberkulose**, v. 4, p. 53-58, 1995.
- RIET-CORREA, F.; GARCIA, M. Tuberculose. In: **Doenças de ruminantes e eqüídeos – volume I**. RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. 3ª ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. 722 p. p. 432-442.
- ROXO, E. *Mycobacterium bovis* como causa de zoonose. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, n. 18, n.1, p. 101-108. 1997.
- SALAZAR, F. H. P.; GUIMARÃES, E. B. Tuberculose bovina. In: LEMOS, R. A. A. (Org.) **Brucelose bovina, tuberculose bovina**. Série Qualificação Rural. Volume 4. Campo Grande, MS: Ed. UFMS, 2006. p. 59-106.
- SMITH, B. P. **Tratado de Medicina Interna de grandes animais – volume 1**. São Paulo: Manole, 1993. 900p.
- THOEN, C.; LOBUE, P.; KANTOR, I. The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 112, p. 339-345. 2006.

**Comunicado
Técnico, 121**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Gado de Corte
Endereço: Rodovia BR 262, Km 4, Caixa Postal
154, 79002-970 Campo Grande, MS
Fone: (67) 3368-2083
Fax: (67) 3368-2083
E-mail: publicacoes@cnpqg.embrapa.br

1ª edição
Versão online (2009)

**Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

**CGPE 8535****Comitê de
publicações**

Presidente: *Cleber Oliveira Soares*
Secretário-Executivo: *Grácia Maria S. Rosinha*
Membros: *Fabiane Siqueira, Ecila Carolina N. Z. Lima, Elane de Souza Salles, Grácia Maria S. Rosinha, Jaqueline Rosemeire Verzignassi, Lucimara Chiari, Paulo Henrique Nogueira Biscola, Roberto Giolo de Almeida, Rodrigo Amorim Barbosa*

Expediente

Supervisão editorial: *Ecila Carolina N. Zampieri Lima*
Revisão de texto: *Lúcia Helena Paula do Canto*
Editoração eletrônica: *Ecila Carolina N. Zampieri Lima*