

Paulo Rodrigues Lopes Filho

**PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DA TUBERCULOSE BOVINA NO
LABORATÓRIO NACIONAL AGROPECUÁRIO DE MINAS GERAIS,
2004 A 2008**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Epidemiologia

Orientador: José Ailton da Silva

Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2010

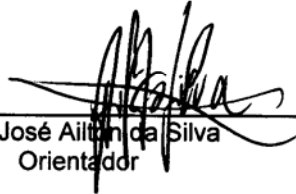
L864p Lopes Filho, Paulo Rodrigues, 1976-
Perfil epidemiológico da tuberculose bovina no Laboratório Nacional
Agropecuário de Minas Gerais, 2004 a 2008 / Paulo Rodrigues Lopes Filho.
– 2010.
41 p. :il.

Orientador: José Ailton da Silva
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais,
Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

1. Bovino – Doenças – Teses. 2. Tuberculose em bovino – Diagnóstico -
Teses – 3. Vigilância epidemiológica – Teses. I. Silva, José Ailton da.
II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.089 699 5

Dissertação defendida e aprovada em 24 de fevereiro de 2010, pela Comissão Examinadora constituída por:



Prof. José Ailton da Silva
Orientador



Prof. Pedro Moacyr Pinto Coelho Mota



Prof. Francisco Carlos Faria Lobato



Prof. Ronnie Antunes de Assis

“O fator decisivo para vencer o maior obstáculo é, invariavelmente, ultrapassar o obstáculo anterior”.

Henry Ford.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela conquista desta etapa tão importante em minha vida, mostrando o caminho a seguir e suprimindo todas as minhas necessidades.

Aos meus pais Rosalina e Paulo, aos meus irmãos Renato e Eduardo (em memória) e a toda minha família pelo incentivo, amor eterno e respeito depositados.

À minha noiva Aliene que mesmo apesar dos percalços, manteve a confiança em minha vitória, nutrindo-me com o seu carinho e amor.

Ao Prof. José Aílton pela orientação sempre palpada por muito respeito, profissionalismo e serenidade, a gratidão será sempre o meu grande dever.

Aos professores Élvio, José Newton, Pedro Light, João Paulo e Danielle, pelo agradável convívio durante esta etapa na Escola de Veterinária.

Aos membros da banca examinadora Prof. Francisco Lobato, Dr. Pedro Mota e Dr. Ronnie Assis pelas importantes sugestões e críticas construtivas que enriqueceram este trabalho.

A todos os meus colegas de pós-graduação, em especial, ao Fernando, Letícia, e Guilherme.

Ao Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) e ao Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO/MG), na figura dos seus coordenadores Dr. Ricardo Aurélio e Dr. Pedro Mota pela liberação para as atividades acadêmicas.

A todos que trabalham ou já trabalharam no setor de Diagnóstico de Doenças Bacterianas (DDB) do LANAGRO/MG, em especial as grandes amigas Dra. Andrea, Omara, Flávia, Tatiana e Eliziane que efetivamente realizaram as análises bacteriológicas e forneceram todos os dados utilizados para este trabalho de pesquisa. O meu muito obrigado.

Ao Dr. Antônio Augusto Fonseca Júnior pela elaboração do banco de dados informatizado para o armazenamento de todos os resultados de diagnóstico realizados.

Aos grandes amigos da família LANAGRO/MG, em especial aos do setor de Controle de Produtos Biológicos (CPB).

E a todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 LITERATURA CONSULTADA	10
2.1 Conceituação e Histórico	10
2.2 Epidemiologia	11
2.2.1 Resistência	11
2.2.2 Agente etiológico	11
2.2.3 Hospedeiros e Transmissão	12
2.2.4 Distribuição Geográfica e Prevalência.....	12
2.2.5 Fatores associados à ocorrência de TB	14
2.3 Prejuízos socioeconômicos decorrentes da TB	14
2.4 Tuberculose humana de origem animal	15
2.5 Patogenia	15
2.6 Sinais clínicos e Distribuição das lesões em Bovinos	16
2.7 Diagnóstico Bacteriológico	16
2.8 Estratégias para o Controle e Erradicação da TB	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Etapas da Pesquisa	19
3.2 Caracterização do Estudo.....	19
3.3 Fonte de Dados	19
3.4 Coleta das amostras para diagnóstico bacteriológico	19
3.5 Recebimento das amostras no laboratório e precauções analíticas	20
3.6 Realização do diagnóstico bacteriológico.....	20
3.7 Variáveis utilizadas do formulário de encaminhamento	20
3.7.1 Peças anatômicas enviadas ao laboratório	21
3.7.2 Origem do animal.....	21
3.7.3 Sexo	21
3.7.4 Idade	21
3.7.5 Raça.....	21
3.7.6 Animal tuberculinizado.....	22
3.8 Análise estatística	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5 CONCLUSÕES	34
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
Anexo A – Modelo Formulário	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mapa da Distribuição da Tuberculose Bovina no Mundo de janeiro a junho de 2005.....	13
Figura 2	Mapa da Distribuição da Tuberculose Bovina no Mundo de janeiro a junho de 2008.....	13
Figura 3	Distribuição da frequência de idade dos bovinos com diagnóstico bacteriológico positivo para Tuberculose Bovina – Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/MG), 2004 a 2008.....	29
Figura 4	Distribuição da frequência das raças dos bovinos que originaram amostras para diagnóstico bacteriológico de Tuberculose Bovina – Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/MG), 2004 a 2008.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Frequência dos perfis de diagnóstico bacteriológico de Tuberculose Bovina realizado no Laboratório Nacional Agropecuário em Pedro Leopoldo, Minas Gerais, 2004 a 2008.....	22
Tabela 2	Distribuição das lesões macroscópicas sugestivas de Tuberculose Bovina nas peças anatômicas enviadas ao Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO/MG) para diagnóstico bacteriológico, 2004 a 2008.....	25
Tabela 3	Frequência de amostras recebidas para diagnóstico bacteriológico de Tuberculose Bovina no Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO/MG) por região do Brasil, 2004 a 2008.....	27
Tabela 4	Distribuição espacial dos frigoríficos sob inspeção federal (SIF) – Brasil, 2005.....	28
Tabela 5	Frequência das lesões em relação ao sexo dos bovinos – Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO/MG), 2004 a 2008.....	29
Tabela 6	Dados referentes à tuberculinização de bovinos que originaram amostras para bacteriologia de Tuberculose Bovina – Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/MG), 2004 a 2008.....	31
Tabela 7	Resultados dos exames de tuberculinização dos bovinos que originaram amostras para diagnóstico bacteriológico de Tuberculose Bovina – Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/MG), 2004 a 2008.....	31
Tabela 8	Resultados bacteriológicos de Tuberculose Bovina de bovinos, segundo a sua reação à tuberculinização – Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/MG), 2004 a 2008.....	31

RESUMO

O perfil do diagnóstico bacteriológico da tuberculose bovina (TB) fornece elementos importantes para investigações epidemiológicas a respeito desta enfermidade. Foi com este intuito que se buscou caracterizar os resultados dos exames bacteriológicos de TB, realizados no LANAGRO em Pedro Leopoldo, Minas Gerais, de 2004 a 2008. Para tal, procedeu-se um estudo descritivo analisando este conjunto de observações obtidas e considerando algumas variáveis presentes nos **Formulários de Encaminhamento de Amostras para Diagnóstico de Tuberculose**. As informações alimentaram um sistema informatizado de banco de dados, que posteriormente foi processado, utilizando a distribuição de frequências, para obtenção de tabelas e gráficos. Verificou-se que o estado de Minas Gerais remeteu 89,3% das amostras ao LANAGRO/MG durante o período do estudo. Elas apresentaram percentual de 65,9% (574/871) de positividade para o *Mycobacterium bovis*. A presença de lesões sugestivas de tuberculose foi de 79,4% (692/871), sendo 80,9% (560/692) destas lesões, atribuídas ao *M. bovis*. Elas concentraram-se no trato respiratório (53,1%), seguidas pela carcaça (20,2%), cavidade abdominal (16,5%), conjunto cabeça-língua (8,3%) e mama (2,0%). Os linfonodos pulmonares (19,7%), mediastínicos (12,8%) e o parênquima pulmonar (12,0%) foram os principais tecidos onde se detectou o agente causador da TB com maior regularidade. O perfil de sexo, raça e idade dos bovinos que originaram amostras para o laboratório foi formado por fêmeas (67,1%) de raças leiteiras (40,1%) de dois anos e meio até sete anos (85,2%). O abate dos animais com as alterações patológicas de tuberculose aconteceu em estabelecimentos sob inspeção sanitária (96,2%), ocorrendo a condenação total das carcaças em 77,5% das vezes. Nas propriedades de procedência dos bovinos abatidos informou-se que não ocorreram outros casos da doença em 38,8% das vezes. Entretanto, somente 22,2% dos bovinos abatidos possuíam histórico de alguma tuberculinização realizada. Naqueles positivos à tuberculinização isolou-se o *M. bovis* em 55,8% dos casos. Considera-se que a caracterização dos resultados do diagnóstico bacteriológico de TB, executada nesta de pesquisa, forneça subsídios às ações de vigilância epidemiológica contra esta enfermidade.

Palavras-chave: diagnóstico bacteriológico, tuberculose bovina (TB), vigilância epidemiológica.

ABSTRACT

*The bovine tuberculosis (BT) bacteriological diagnostic profile provides important elements for epidemiological investigations about this illness. With this intention had been tried to characterize the BT bacteriological exams results accomplished at LANAGRO in Pedro Leopoldo, Minas Gerais, Brazil, from 2004 to 2008. To that, a descriptive study was proceeded in order to analyze this group of obtained information, taking into account some present variables in the **Guiding Formularies of Samples for Tuberculosis Diagnosis**. The information feed a computerized data base system, that was subsequently processed using the frequencies distribution, with the purpose of obtain graphics and tables. It could be verified that the Brazilian state of Minas Gerais had sent 89.3% of the samples to LANAGRO/MG during the period of study. They showed 65.9% (574/871) of positivity for Mycobacterium bovis. The presence of suggestive lesions of tuberculosis was 79.4% (692/871), and from these, 80.9%(560/692) attributed to M. bovis. The lesions are concentrated in respiratory tract (53.1%), followed for carcass (20.2%), abdominal cavity (16.5%), head-tongue complex (8.3%) and breast (2.0%). The pulmonary lymphnodes (19.7%), mediastinal (12.8%) and pulmonary parenchyma (12.0%) were the main tissues in which had been detected the BT provoker agent with more regularity. The bovines profiles of sex, race and age that originated samples for the laboratory were composed for females (67.1%) from milk producers races (40.1%) in the age of two years and a half until seven years (85.2%). The slaughter of animals with pathological alterations from tuberculosis occurred in establishments under sanitary inspection (96.2%), with the total condemnation of carcasses in 77.5% of the times. In properties of slaughtered bovines precedence was informed that did not happen other cases of the disease in 38.8% of the times. However, only 22.2% of the slaughtered bovines possessed historic of some accomplished tuberculinization. In those positives to tuberculinization, the M. bovis was isolated in 55.8% of the cases. It is considered that the characterization of TB bacteriological diagnosis results, executed in this research work, provides subsidies to actions of epidemiological vigilance against this illness.*

Keywords: bacteriological diagnosis, bovine tuberculosis (TB), epidemiological vigilance

1 - INTRODUÇÃO

A Tuberculose bovina (TB) é uma zoonose, amplamente distribuída no mundo e que causa inúmeros prejuízos econômicos e sociais ligados à atividade pecuária de corte e leite.

Segundo Roxo (1997), a tuberculose bovina, assim como a humana, reassumiu grande importância em todo o mundo, com destaque para os países em desenvolvimento. A Organização Mundial da Saúde declarou a tuberculose como "emergência global", tendo em vista as mais de 30 milhões de mortes em humanos causadas por essa enfermidade na última década. Dez milhões dessas mortes tinham a associação de tuberculose com a síndrome da imunodeficiência adquirida - AIDS - (A tuberculose, 2002). O surgimento da AIDS colaborou para o aumento no número de novos casos de tuberculose e no risco de manifestações da doença em humanos, tanto por *M. tuberculosis* como por *M. bovis* (O'Reilly e Daborn, 1995; Roxo, 1997).

Entre 1989 e 1998, notificações oficiais indicavam uma prevalência, no Brasil, de 1,3% de animais infectados (Manual, 2006).

Para auxiliar o controle deste reemergente problema de saúde pública, servir como suporte a inspeção sanitária e aferir a eficácia da prova de tuberculinização é necessário o estudo do diagnóstico bacteriológico desta enfermidade. A exportação de carne do Brasil para a Rússia também fez aumentar a demanda pelo exame, uma vez que este país exige para a compra a realização do teste diagnóstico.

É com estes pressupostos que o Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO/MG) executa esta atividade, colaborando intensamente com o Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCETB) que foi instituído em 2001 pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Há mais de 25 anos o LANAGRO/MG, localizado no município de Pedro Leopoldo, oferece serviço de excelência no apoio laboratorial as atividades de defesa agropecuária. O laboratório de Diagnóstico de Doenças Bacterianas (DDB), pertencente ao LANAGRO/MG, realiza o diagnóstico bacteriológico da tuberculose, dentre outras doenças de importância para a pecuária no Brasil.

As análises dos resultados das amostras de diagnóstico bacteriológicas, efetuadas no Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO-MG), servem como base para fornecer dados a investigações epidemiológicas acerca da TB no Brasil.

Dentro deste contexto, o presente trabalho teve por objetivo geral caracterizar os resultados do diagnóstico bacteriológico de TB, considerando as variáveis presentes no formulário de encaminhamento de amostras para diagnóstico de tuberculose, realizados no LANAGRO em Pedro Leopoldo, Minas Gerais, de 2004 a 2008.

2 - LITERATURA CONSULTADA

2.1 - Conceituação e histórico

A tuberculose bovina (TB) é uma enfermidade infecciosa causada por *Mycobacterium bovis*, e se caracteriza normalmente pela formação de granulomas nodulares conhecidos como tubérculos. Apesar de se definir como uma doença crônica debilitante, a TB pode apresentar ocasionalmente um curso agudo, rápido e progressivo. É uma zoonose que tem como principal reservatório os bovinos, mas infecta uma grande variedade de espécies animais. Trata-se de uma doença antiga, disseminada pelo mundo inteiro e extremamente importante sob o ponto de vista de saúde pública (Oliveira *et al.*, 1983; Manual, 2008).

A tuberculose bovina existiu no litoral do mediterrâneo antes dos clássicos tempos. Ela se difundiu do norte da Itália para a Europa Ocidental e Grã Bretanha. Por esta

Ilha, bovinos infectados foram distribuídos para diversas partes do mundo que foi colonizado (Gomes, 2008).

Em 1882, Robert Koch, descobriu o agente infeccioso, corando-o pela fucsina-anilina e isolando-o em meio de cultura em 1884. Mas foi somente em 1897, nos EUA, que a diferenciação entre o bacilo humano, bovino e o aviário foi descrita por Smith (Pritchard, 1988).

A atualidade da questão da tuberculose é indiscutível, pois os avanços no seu conhecimento e a tecnologia disponível para seu controle, não têm sido suficientes para impactar significativamente a sua morbidade e mortalidade, principalmente nos países em desenvolvimento (Bianchini e Rodrigues, 2008).

2.2 - Epidemiologia

2.2.1 - Resistência

Mycobacterium bovis é um micro-organismo de parasitismo obrigatório; no entanto, pode sobreviver por longos períodos no meio ambiente sob condições favoráveis. (Morris *et al.*, 1994).

O bacilo é moderadamente resistente ao calor, dissecação e diversos desinfetantes. Permanece viável em estábulos, pasto e esterco por até 2 anos, até 1 ano na água e por até 10 meses nos produtos de origem animal contaminados. Agentes desinfetantes como fenólicos, formólicos, álcool e em especial o hipoclorito de sódio são bastante eficientes no combate ao bacilo, contudo sua ação pode ser afetada pela concentração do produto, o tempo de exposição, a temperatura e a presença de matéria orgânica. Compostos de amônio quaternários e clohexidine não destroem o bacilo. A pasteurização do leite mata além das micobactérias, a maioria dos microrganismos não esporulados. É rapidamente destruído pela luz solar direta em ambiente seco. Em condições de umidade, temperatura e ao abrigo da luz solar, se mantém viável por longos períodos, como até 2 anos no interior dos

estábulo (Russel *et al.*, 1984; Bianchini e Rodrigues, 2008).

A adequada disponibilidade de nutrientes na matéria orgânica é um importante fator para essa sobrevivência. No caso de escassez de nutrientes, o micro-organismo torna-se mais suscetível aos efeitos adversos da ação da temperatura, que causará a morte da bactéria (Morris *et al.*, 1994).

2.2.2 - Agente etiológico

As micobactérias são micro-organismos pertencentes à ordem Actinomycetales, família Mycobacteriaceae e gênero *Mycobacterium*. A tuberculose bovina é determinada por *Mycobacterium bovis*, uma micobactéria intracelular que integra um grupo, cujas espécies são responsáveis pela tuberculose dos mamíferos, caracterizada pelo crescimento lento em meio de cultura (Miltgen *et al.*, 2002).

As micobactérias do complexo *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* e *M. microti*) são as principais causadoras da tuberculose nos mamíferos (Manual, 2008).

São bastonetes curtos aeróbicos, imóveis, não capsulados, não flagelados, apresentando aspecto granular quando corados, medindo de 0,5 a 7,0 µm de comprimento por 0,3 µm de largura, sendo a álcool-ácido-resistência a sua propriedade mais característica. No entanto, muitas dessas características, inclusive a tintorial, superpõem-se nos gêneros *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus* e *Corynebacterium*. (Manual, 2006).

As micobactérias apresentam parede celular complexa constituída por lipídeos e polipeptídeos, que estão relacionados com a capacidade de sobrevivência dentro das células do hospedeiro, e também atuam como uma camada de cera que impermeabiliza a superfície micobacteriana, o que a torna altamente resistente a compostos hidrofílicos (Corner, 1994). O alto conteúdo lipídico da parede celular da micobactéria é responsável por importantes

efeitos biológicos no hospedeiro, como a formação do granuloma e a antigenicidade (Manual, 1994).

2.2.3 - Hospedeiros e transmissão

O *M. bovis* possui uma das maiores cadeias de hospedeiros entre todos os patógenos existentes, com um complexo padrão epidemiológico, que envolve interações da infecção entre seres humanos, animais domésticos e animais selvagens (Morris *et al.*, 1994).

Muitos animais selvagens são suscetíveis à tuberculose causada pelo *M. bovis*, e isso é de particular importância para os programas de controle e erradicação dessa enfermidade, pois constituem uma fonte de infecção para bovinos (Almeida, 2004).

Dentre os animais que o micro-organismo já foi isolado, estão: búfalos, bisões, ovelhas, cabras, equídeos, camelos, javalis, cervos, antílopes, cães, gatos, ratos, primatas, lhamas, alces, elefantes, rinocerontes, focas, lebres, coiotes e vários predadores felinos como leões, tigres, leopardos e lincos (Konyha *et al.*, 1980; De Lisle *et al.*, 2001).

No Brasil, certamente existem espécies silvestres suscetíveis ao *M. bovis*, mas é desconhecida a importância desses animais como reservatório do agente para bovinos (Manual, 2006).

O bovino, uma vez infectado, já é capaz de transmitir a doença a outros, mesmo antes do desenvolvimento de lesões teciduais (Neill *et al.*, 1994). Ele é capaz de eliminar o bacilo no leite, expectoração, corrimento nasal, fezes, urina, secreções vaginais e uterinas, e pelo sêmen (Brunini Sobrinho, 1988; Roxo, 1996; Roxo, 1997).

A inalação (via aerógena) é a rota mais comum de infecção no gado, e 80 a 90% das infecções podem ser contraídas por essa via de transmissão (Little *et al.*, 1982; Wilesmith *et al.*, 1982; Oliveira *et al.*, 1983; Rosemberger, 1983; Mota e Nakajima,

1992; Grange e Yates, 1994; Morris *et al.*, 1994).

Como a transmissão é predominantemente respiratória, o confinamento tem particular importância na difusão da doença no rebanho, o que explica a maior prevalência no gado leiteiro estabulado. Espera-se, que a prevalência no gado de corte seja menor em relação ao de leite devido aos animais serem criados em sistema extensivo e abatidos precocemente com menor tempo de exposição aos bovinos infectados do rebanho. Porém, com o aumento da idade dos animais e a permanência destes na propriedade, ocorre um acréscimo na prevalência. O tamanho do rebanho também é importante na transmissão da infecção. A tuberculose em um rebanho é introduzida, principalmente, pela aquisição de animais infectados, podendo se propagar nos bovinos, independentemente da idade, sexo e raça (Roxo *et al.*, 1993; Abrahão, 1998; Franco *et al.*, 2000).

A fonte de contaminação mais comum para bezerros é a ingestão de leite infectado. Esporadicamente o alimento, forragem ou água contaminada são as vias de transmissão para os animais (Little *et al.*, 1982; Rosemberger, 1983; Thoen *et al.*, 1984; Mota e Nakajima, 1992; Morris *et al.*, 1994; Neill *et al.*, 1994; Roxo, 1997). Se houver contaminação do leite por *M. bovis*, a infecção é evidenciada pela localização do complexo primário em órgãos digestivos e gânglios regionais (Thoen e Steele, 1995).

A via pela qual os animais são infectados, a resposta imune do hospedeiro e a virulência do micro-organismo são de grande importância para a sobrevivência, multiplicação e manifestação da doença no hospedeiro (Collins, 2001).

2.2.4 - Distribuição Geográfica e Prevalência

A TB possui distribuição mundial sendo responsável por determinar morbidade e mortalidade em bovinos em várias partes do mundo. Concentrando-se principalmente em países em desenvolvimento e em criações intensivas, como em bovinos leiteiros.

Nestes países, a prevalência é maior, e assume grande importância para a saúde pública, pecuária e comércio internacional de animais e seus subprodutos (Kleeberg, 1984; Acha e Szyfres, 1986, Jorge, 2001, Wedlock *et al.*, 2002).

As figuras abaixo comprovam que a enfermidade em sua forma clínica agrupa-se, na atualidade, principalmente em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento.

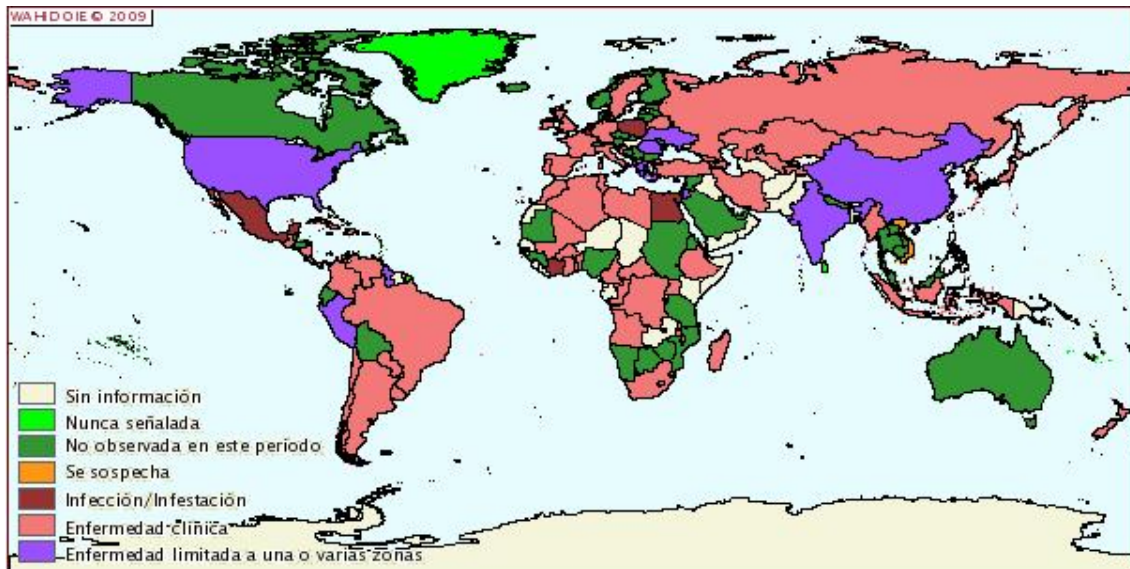


Figura 1 - Mapa da Distribuição da Tuberculose Bovina no Mundo de janeiro a junho de 2005
 Fonte: Base de datos del Sistema mundial de información zoonositaria (WAHID).

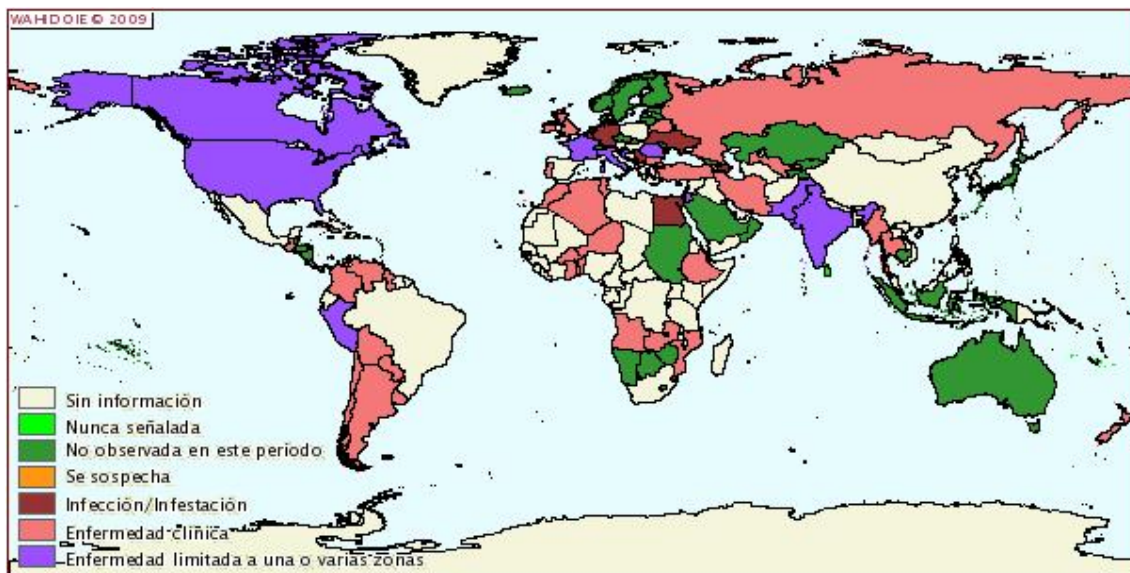


Figura 2 - Mapa da Distribuição da Tuberculose Bovina no Mundo de janeiro a junho de 2008
 Fonte: Base de datos del Sistema mundial de información zoonositaria (WAHID)

Fato que provoca preocupação é que 85% dos bovinos e 82% da população humana mundial encontram-se em áreas onde a tuberculose bovina não está controlada ou possui apenas controle parcial. Na Ásia, são 94% dos bovinos, 99% dos búfalos e 93% da população humana em áreas sem controle e na América Latina, 24% dos bovinos e 60% da população (Cosivi *et al.*, 1998).

Levantamentos oficiais realizados no Brasil entre 1989 a 1998 indicam que a prevalência média da TB seja de 1,3% de animais infectados. (Manual, 2006).

A maioria dos estudos sobre a prevalência da TB por região do Brasil são pontuais, ou seja, foram executados em poucas propriedades e com número reduzido de animais, e não representam a real situação da doença no país. Entretanto, o único estudo realizado, até o momento, que foge a este princípio foi o de Belchior (2001). A pesquisadora estimou a prevalência da TB em Minas Gerais, amostrando 54% do território do Estado, 70% da população bovina, 75% dos rebanhos bovinos e envolvendo aproximadamente 1.600 propriedades e 23.000 animais. A prevalência foi de 0,8% de animais positivos à tuberculinização comparada e 5% de rebanhos positivos, tendo este valor subido para 15% em propriedades produtoras de leite com algum grau de tecnificação da produção.

A variação na prevalência da TB nas diferentes regiões pode estar relacionada a diversos fatores como fonte de aquisição de animais, manejo, clima e ao serviço de diagnóstico da tuberculose em cada propriedade (Poletto *et al.*, 2004).

2.2.5- Fatores associados à ocorrência de TB

Vários estudos com uso de técnicas multivariadas para análise dos fatores associados à ocorrência de tuberculose em rebanhos bovinos indicaram que as variáveis identificadas como sistema de produção, tamanho de rebanho, manejo,

idade, raça, introdução de animais, presença de animais de corte e leite nos rebanhos agem como determinantes de prevalência diferenciadas de TB (Griffin *et al.*, 1996; Marangon *et al.*, 1998; Asseged *et al.*, 2000; Omer *et al.*, 2001; Perez *et al.*, 2002). No Brasil, Belchior (2001)^b descreveu as seguintes variáveis: sistema de produção, grupo genético, sistema de ordenha, resfriamento do leite e monitoramento da produção como fatores de risco para a ocorrência de TB. Os resultados deste estudo consolidam, também, o que foi comprovado por Obiaga *et al.* (1979) para a febre aftosa: que as características da produção pecuária constituem fatores determinantes de ecossistemas diferenciados para doenças transmissíveis.

Oliveira *et al.* (2008) concluíram que o sistema de aleitamento e as interações densidade x aleitamento e produtividade x período são importantes fatores de risco para a ocorrência e distribuição da TB na população estudada. Os autores ressaltam também, a importância da organização econômica da produção pecuária na ocorrência da TB. Este é um fator relevante em decorrência dos danos à saúde humana e animal.

2.3 - Prejuízos socioeconômicos decorrentes da TB

Vários autores (Baptista, 1999; Abrahão *et al.*, 2005; Thoen *et al.*, 2006; Alves *et al.*, 2008); citam que a TB gera consequências socioeconômicas desastrosas para os pecuaristas. Entre as principais, estão: (a) aquisição de animais doentes; (b) redução da produção de leite e carne; (c) desvalorização ou condenação das carcaças dos animais infectados; (d) maior intervalo entre partos; (e) maior necessidade de substituição dos animais no rebanho; (f) produção de crias debilitadas; (h) comprometimento do melhoramento do rebanho, (i) aumento nos custos de produção e no processamento de produtos de origem animal; (j) restrições na movimentação e comercialização interna ou internacional.

2.4 - Tuberculose humana de origem bovina

A tuberculose humana e animal causada pelo *M. bovis*, é conhecida desde o final do século XIX. Entretanto, seus efeitos na produtividade dos rebanhos afetados e na saúde humana, tornaram-se aparentes somente no início do século XX com o desenvolvimento da indústria leiteira na Europa e América (Abrahão, 1998).

Na década de 50 a tuberculose bovina inspirava cuidados às autoridades de saúde pública devido à existência da doença no gado bovino, o que representava a possibilidade do contágio por inalação ou contato, e aos hábitos alimentares da população, essencialmente ligados à ingestão de leite cru (Feldman, 1955).

Atualmente, a incidência de tuberculose humana de origem animal tem diminuído nos países onde existem campanhas de combate a tuberculose bovina e a pasteurização do leite é obrigatória. É considerada uma doença ocupacional, acometendo principalmente os tratadores de rebanhos infectados e os trabalhadores da indústria de carnes, nos quais a forma clínica observada é a pulmonar. As crianças, idosos e pessoas portadoras da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida, que se alimentam de leites e derivados crus de vacas infectadas, estão expostas a um alto risco de contágio devido aos fatores fisiológicos e imunológicos. Neste grupo, a forma mais comum é a extrapulmonar (Acha e Szyfres, 1986; Morris *et al.*, 1994; Manual, 2006).

Locais com alta prevalência destes agentes contribuem para a infecção de humanos imunodeficientes. Apesar da maioria dos casos em humanos ser causado pelo *M. tuberculosis*; os casos cuja etiologia é o *M. bovis* também podem alcançar índices importantes em algumas regiões (Schwarz *et al.*, 2002).

O risco de contrair tuberculose pelo consumo de carne é menor que pelo leite e derivados, pois o agente, quando encontrado, apresenta-se em baixas

concentrações em tecidos musculares e no Brasil não temos o hábito de ingerir carne crua. Mas devido ao grande número de abates clandestinos, tal risco não deve ser desprezado. Nestes casos, a contaminação da carne pode ocorrer no momento do abate, por meio dos utensílios, por exemplo, as facas, que são contaminadas nos focos de lesões e não são higienizadas adequadamente para serem utilizadas nos cortes cárneos (Miranda *et al.*, 2008).

Um dos resultados dos programas de erradicação da tuberculose bovina tem sido uma diminuição dos casos da enfermidade e morte causadas pela tuberculose bovina na população humana (Manual, 2008).

Miranda *et al.*(2008), consideram que a redução dos casos de tuberculose humana causada pelo *M. bovis* deve partir do controle desta enfermidade nos bovinos. Segundo os autores, faz-se necessário um programa de educação sanitária que esclareça os riscos da doença, bem como sua prevenção e controle.

2.5 - Patogenia

Esta enfermidade é caracterizada pela formação de lesão do tipo granulomatosa, de aspecto nodular, denominada "tubérculo" (La Tuberculosis, 1982; Rosemberger, 1983; Guia, 1989; Mota e Nakajima, 1992; Flamand *et al.*, 1994).

Os granulomas representam à expressão da inflamação granulomatosa que restringe e previne o crescimento do *M. bovis*. As interações, na lesão, entre macrófagos, linfócitos, citocinas e o *M. bovis* irão influenciar a aparência morfológica do granuloma, pois a necrose, liquefação e mineralização são reflexos destas interações (Cassidy, 2006).

No bovino, a lesão pulmonar primária (foco primário) é muito similar à lesão que ocorre no homem, ou seja, haverá a formação do complexo primário, que raramente cura-se espontaneamente no bovino (La Tuberculosis, 1982; Collins e Grange, 1983; Lepper e Corner, 1983; Rosemberger, 1983;

Thoen e Himes, 1986; Morris *et al.*, 1994; Neill *et al.*, 1994). A evolução e a gravidade da infecção dependerão basicamente da existência de fatores associados, como: doenças intercorrentes, carência mineral, condições climáticas extremas, ou seja, qualquer fator de “stress” que venha a diminuir a resistência do animal. Assim, as micobactérias, usualmente restritas ao complexo primário, ganham a circulação e disseminam-se pelo organismo animal, atingindo os mais diversos órgãos (Rosemberger, 1983; Mota e Nakajima, 1992; Morris *et al.*, 1994).

2.6 - Sinais Clínicos e Distribuição das lesões em Bovinos

Os sinais clínicos da infecção variam segundo a distribuição das lesões pelo corpo. São muito inespecíficos e na maioria das vezes há ausência de sinais característicos. Até mesmo em fases avançadas da enfermidade, quando já afeta muitos órgãos. Os bovinos podem apresentar caquexia progressiva, hiperplasia de linfonodos superficiais e/ou profundos, dispneia, tosse, mastite e infertilidade, entre outros. (Manual, 2006; Smith, 2006; Manual, 2008).

Apesar da inespecificidade dos sinais, o exame clínico é importante na erradicação da tuberculose de um rebanho, pois os animais que têm doença evoluída, generalizada, apresentam geralmente um decréscimo da sensibilização alérgica (Heinemann *et al.*, 2008).

No teste alérgico, em geral estes animais reagem pouco, às vezes chegando mesmo à anergia. A importância do exame clínico, como diagnóstico complementar ao teste alérgico, é evidente, principalmente para auxiliar na identificação de animais anérgicos, que geralmente têm tuberculose evoluída se manifestando por tosse seca, curta e repetitiva (Radostitsts *et al.*, 2002; Smith, 2006).

Segundo o Manual da OIE, as lesões de tuberculose são vistas com mais frequência nos gânglios linfáticos bronquiais e mediastínicos, que podem ser o único tecido

infectado. Observa-se, às vezes, afetados também os pulmões, o fígado, o baço e as superfícies das cavidades do corpo. Outros locais anatômicos podem ser considerados como potencialmente infectados.

No Reino Unido, entre 1968 a 1994, Goodchild e Clifton-Hadley (2001) demonstraram que 53,3% dos animais apresentavam lesões nos linfonodos do mediastino e bronquiais, 39,4% apresentavam lesões nos linfonodos da cabeça, 15% lesões no pulmão e 7,2% nos linfonodos do mesentério.

2.7 - Diagnóstico Bacteriológico

As lesões macroscópicas granulomatosas na inspeção de uma carcaça são sugestivas de tuberculose. Porém, é necessário realizar o diagnóstico confirmatório para detectar o *M. bovis* nas amostras, principalmente em linfonodos e pulmões, para diferenciar de outros processos patológicos com alterações semelhantes. (Hernandez De Anda *et al.*, 1997; Sakamoto *et al.*, 2008).

O diagnóstico definitivo da tuberculose humana ou animal está baseado em isolamento e identificação do agente. As técnicas microbiológicas clássicas empregadas para o isolamento de micobactérias revelam baixa sensibilidade, pois há perdas consideráveis nos processos de descontaminação, além das perdas decorrentes do estado de conservação das amostras enviadas ao laboratório (Richards e Wright, 1983). Há também o consumo de várias semanas entre o isolamento primário e a identificação final da espécie (Corner, 1994).

Embora o diagnóstico bacteriológico seja um processo laborioso e de baixa sensibilidade, ele oferece aspectos positivos. As análises bacteriológicas completas são necessárias, segundo o Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), nas seguintes situações: confirmação da infecção tuberculosa em bovinos em regiões onde não foi comprovada anteriormente; estudo de

animais positivos ao teste tuberculínico, nos quais não se observaram lesões macroscópicas sugestivas de tuberculose; confirmação da presença da infecção em animais positivos ao teste tuberculínico, com ou sem lesões macroscópicas, de uma propriedade considerada livre de tuberculose; pesquisa de micobactérias em lesões sugestivas de tuberculose, encontradas durante a inspeção sanitária *post-mortem* de animais provenientes de unidade de criação monitoradas para tuberculose; pesquisa de micobactérias em amostras de leite e de outros produtos de origem animal; necropsias de animais com reações inespecíficas, nos quais são encontradas lesões sugestivas de tuberculose.

Recentemente, a realização do diagnóstico bacteriológico de TB ganhou mais importância para o Brasil devido à exportação de carne bovina para a Rússia. Este país tem sido o principal destino das exportações brasileiras de carnes suína e bovina. Os russos exigem para a compra do produto, resultados negativos nos testes bacteriológicos. Sendo assim, a demanda pelo exame no Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO/MG) aumentou consideravelmente. Tendo em vista o tempo prolongado para a obtenção do resultado das análises bacteriológicas são feitas no laboratório de biologia molecular do LANAGRO/MG, em paralelo, testes de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) que são mais rápidas além de servirem também para confirmar os resultados obtidos no exame bacteriológico.

2.8 - Estratégias para o Controle e Erradicação da TB

A grande dificuldade no controle e, principalmente, na sua erradicação, na maioria dos países, é claramente evidenciada, tendo em vista sua epidemiologia multifatorial (Pfeiffer, 2006).

Mesmo em países onde a doença no bovino encontra-se controlada ou erradicada, existe o risco de reintrodução, principalmente porque grande parte do efetivo bovino

mundial encontra-se em áreas onde não há controle da enfermidade (Snider *et al.*, 1994).

Verifica-se, pois, que os países desenvolvidos, de forma geral, apresentam o controle e erradicação em fase avançada, com baixos níveis de prevalência. Já os países em desenvolvimento, onde as ações são normalmente tardias, sujeitas a uma série de dificuldades e, muitas vezes sem a necessária continuidade, a prevalência é geralmente maior (Lôbo, 2008).

O controle da doença na América do Norte encontra-se em um estágio avançado, observando-se, nos EUA e Canadá, índices de incidência da doença muito baixos, contando inclusive com áreas livres de tuberculose bovina, mas ainda estão presentes áreas endêmicas no México. O programa federal de controle da tuberculose bovina foi implantado em 1917 nos EUA, e em 1994 a prevalência da infecção foi estimada em 0,003% no rebanho bovino. Nessa ocasião não havia registro de tuberculose humana causada por *M. bovis* em indivíduos residentes, exceto naqueles recentemente imigrados para os EUA de países com alta prevalência de tuberculose bovina (Salazar, 2005).

O programa canadense de erradicação da tuberculose bovina foi estabelecido em 1923. Em 1994, oito das dez províncias que constituem o Canadá já eram consideradas áreas livres da doença, e a erradicação total da enfermidade nos bovinos estava prevista para os próximos anos. Bisões e cervídeos silvestres infectados pelo *M. bovis* ainda representam uma fonte de infecção para animais domésticos na América do Norte. A boa participação dos pecuaristas frente aos focos de infecção, a eficiência no controle do trânsito animal, e o abate da grande maioria dos animais que se dá em matadouros-frigoríficos com rigorosa inspeção sanitária, lograram êxito ao programa nos EUA e Canadá (Essey e Koller, 1994).

Países membros da UE, segundo levantamento realizado em 1991, apresentavam prevalência variada de

tuberculose bovina. A Irlanda com 8,8% de casos e a Itália com 3,71% ainda não haviam alcançado a erradicação, a Espanha, onde o programa nacional de erradicação havia, recentemente, sido iniciado, a infecção atingia 10,8% dos rebanhos bovinos. Estudo realizado na Irlanda mostrou que espécies silvestres são hospedeiras que atuam na manutenção do *M. bovis* e contribuem para a persistência e difusão da enfermidade em animais domésticos, especialmente o furão *Meles meles*, interferindo na eficácia de programas de erradicação da tuberculose em rebanhos bovinos (Cafrey, 1994; Gormley e Collins, 2000).

O controle da TB depende fundamentalmente do manejo dos rebanhos acometidos, buscando minimizar a possibilidade de animais infectados e doentes contaminarem outros bovinos (Morris *et al.*, 1994). A diminuição da transmissão aos animais suscetíveis pode ser alcançada pela adoção de várias medidas de manejo, como a identificação e separação de animais infectados e seu posterior descarte, associados a medidas de higiene e desinfecção (Alves *et al.*, 2008).

Todos os programas de controle e erradicação da tuberculose bovina que obtiveram sucesso foram baseados no saneamento de rebanhos infectados, por meio da realização de testes de tuberculinização periódicos, sacrifício dos animais reagentes e confirmação do diagnóstico por meio de exames histopatológicos e bacteriológicos. Também se baseavam na adoção de métodos de desinfecção, controle do trânsito de animais, quarentena, notificação, controle de reservatórios, quando necessário, e criação de divisões entre regiões e propriedades conforme a ocorrência da doença (Ferreira-Neto e Bernardi, 1997).

Com a finalidade de erradicar a tuberculose bovina no Brasil, o governo brasileiro regulamentou o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose (PNCEBT) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

(MAPA), instituído em 2001, que estabelece a realização do diagnóstico dessa zoonose e normatiza as medidas de controle. As propostas técnicas do PNCEBT objetivam a certificação de propriedades livres ou monitoradas; controle de trânsito de animais e normas sanitárias para participação em exposições, feiras, leilões e outras aglomerações de animais; credenciamento e capacitação de médicos-veterinários; diagnóstico e apoio laboratorial; participação do serviço social e educação sanitária. Um dos aspectos mais positivos do PNCEBT refere-se à certificação de propriedades monitoradas. Ela foi criada para suprir a dificuldade existente na aplicação das normas técnicas estabelecidas para propriedades livres em estabelecimentos de criação extensiva e com muitos animais, como é característico da pecuária de corte no Brasil. A estratégia seguida consiste em manter o rebanho de animais utilizados para reprodução sob vigilância sistemática e atuar sempre que a infecção seja detectada. Não se trata de declarar rebanhos livres, mas sim de garantir risco epidemiológico muito baixo e mensurável da situação da tuberculose bovina no rebanho (Manual, 2006; Alves, 2008). Como propostas para melhoria do Programa apontam-se: a alocação de mais recursos financeiros aos órgãos oficiais de defesa sanitária animal; a execução contínua de cursos de treinamentos para habilitar os médicos veterinários para diagnóstico a campo; a adoção de medidas indenizatórias por parte do governo aos proprietários que tiveram seus animais sacrificados; o incentivo ao pagamento diferenciado pela indústria alimentícia ao leite e carne oriundos de propriedades certificadas.

A TB não é somente um problema de rebanho, mas afeta a saúde pública, a vida silvestre, as relações de comércio internacionais e muitas outras áreas de interesse privada e pública. Onde não se adotam medidas adequadas de controle seus efeitos sobre a economia e a saúde avançam lenta, mas continuamente (Alves *et al.*, 2008).

A adesão dos produtores a programas de controle e erradicação é fundamental para o

sucesso do combate à tuberculose e dependerá de estímulos e restrições impostas pela cadeia produtiva. A incorporação do controle da tuberculose (e da brucelose) nos programas de qualidade do leite e da carne visando à preocupação com a saúde animal e a saúde pública será, desta forma, mais que uma imposição do serviço de defesa sanitária, mas um processo natural da produção animal (Alves *et al.*, 2008).

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Etapas da Pesquisa

A pesquisa foi realizada em três etapas: levantamento dos dados de diagnóstico de TB; processamento e análise destes dados; apresentação dos resultados e conclusões. As duas primeiras etapas foram executadas a partir do último trimestre de 2008 até o segundo trimestre de 2009.

3.2 - Caracterização do Estudo

Este estudo teve caráter descritivo e analisou os resultados de diagnóstico bacteriológico de TB realizados no LANAGRO em Pedro Leopoldo, Minas Gerais, de 2004 a 2008 considerando algumas variáveis presentes nos **Formulários de Encaminhamento de Amostras para Diagnóstico de Tuberculose** (Anexo A). Estes formulários foram recebidos de praticamente todas as regiões do Brasil, juntamente com as respectivas amostras para exame. Para um melhor entendimento do trabalho foi utilizada a Divisão Regional do Brasil proposta pelo IBGE em 1970, dividindo o território nacional em cinco regiões distintas: Região Sul, Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e Norte.

A escolha em se trabalhar com estes dados se deu devido ao apoio e colaboração, por parte do Setor de Diagnóstico de Doenças Bacterianas (DDB) deste laboratório, em disponibilizá-los para esta pesquisa, como forma de divulgação dos resultados do PNCEBT.

3.3 - Fonte de Dados

Foram utilizados para a pesquisa, dados relativos ao diagnóstico de Tuberculose processados no setor de Diagnóstico de Doenças Bacterianas (DDB) do LANAGRO-MG, 2004 a 2008. Estas informações estão contidas em um banco de dados do Microsoft Access®.

As informações que alimentam o banco de dados do Microsoft Access® foram obtidas a partir dos resultados do diagnóstico bacteriológico de TB e do **Formulário de Encaminhamento de Amostras para Diagnóstico de Tuberculose** (Anexo A) preenchido e encaminhado junto à amostra. O formulário está impresso no Manual do PNCEBT que é enviado aos matadouros sob inspeção federal e aos Médicos Veterinários habilitados no programa. Este banco foi ordenado anualmente, a partir da data de resultado da análise, de 2004 a 2008.

O Access considera como base das atividades de banco de dados, os objetos, como tabelas de dados, formulários de entrada e impressão, consultas que fornecem as respostas de determinadas perguntas e relatórios que resumem as informações e as propriedades que os descrevem. Através desse modelo de objetos, o Access permitiu configurar estrutura, inter-relacionar e filtrar os dados. Posteriormente, agrupou-se um conjunto de informações necessárias para construção de tabelas e gráficos.

3.4 - Coleta das amostras para diagnóstico bacteriológico

Foram coletadas lesões sugestivas de TB durante a inspeção sanitária das carcaças em frigorífico/abatedouros, ou na realização de necropsias nas propriedades rurais. O material foi enviado ao laboratório em frascos de boca larga rotulado, com nome das vísceras, identificação do animal, a origem e a data da coleta, lacrado e envolto em um saco plástico. O recipiente acondicionado foi encaminhado em caixa de isopor com gelo, tendo sido congeladas ou somente resfriadas para o envio. Anexo a

cada amostra está o **Formulário de Encaminhamento de Amostras para Diagnóstico de Tuberculose** (Anexo A). Este conjunto amostra, com respectivo formulário, foi remetido ao LANAGRO/MG para posterior processamento.

3.5 - Recebimento das amostras no laboratório e precauções analíticas

As amostras foram controladas na chegada ao Laboratório por um número de protocolo (BI) dado pela Recepção de Amostras do LANAGRO/MG.

No laboratório de DDB receberam novo número específico e um registro no Caderno de Registro de Amostras para Diagnóstico Bacteriológico de Tuberculose.

O *M. bovis* é um micro-organismo zoonótico integrante do grupo de risco/perigo do nível III (Manual, 2008). Sendo assim, os procedimentos que envolveram o diagnóstico deste agente bacteriano foram realizados no laboratório, pertencente ao setor de DDB, com exigência de biossegurança adequada. Neste laboratório a entrada de pessoas foi totalmente controlada, existindo a troca de roupas para ingresso na área analítica e a filtragem do fluxo de ar, através de diversos filtros especiais, até a saída para as áreas comuns. Antes, durante e após todo o procedimento analítico foram tomadas todas as precauções necessárias para que se evitasse a infecção em humanos, tais como: abertura da caixa contendo as amostras por funcionários treinados e devidamente paramentados com os equipamentos de proteção individual (jaleco, sapatos fechados, máscara, luvas, gorro e óculos) e somente dentro do laboratório de Biossegurança de nível III; verificação das condições de encaminhamento e mensuração da temperatura da amostra; utilização da cabina de segurança biológica para as etapas do cultivo; e descarte, após completa autoclavagem, dos resíduos de diagnóstico.

3.6 - Realização do diagnóstico bacteriológico

O Diagnóstico Bacteriológico da Tuberculose fundamentou-se no isolamento de *Mycobacterium bovis* a partir de 1.211 amostras de tecidos bovinos (linfonodos, fragmentos de pulmão, fígado e outros), das quais 642 eram do aparelho respiratório, 245 da carcaça, 200 da cavidade abdominal, 100 do conjunto cabeça-língua e 24 da mama.

Uma única amostra para o diagnóstico bacteriológico de TB no LANAGRO/MG foi composta de fragmentos de um ou vários tecidos acometidos do mesmo animal com lesões sugestivas da doença.

Os procedimentos que envolveram a avaliação macroscópica de lesão, descontaminação, lavagens, preparo de inóculo para esfregaço (corado pelo método de Ziehl Neelsen) e inoculação em meios de cultura, além das provas bioquímicas empregadas foram feitos utilizando a metodologia elaborada pelo LANAGRO/MG. Metodologia esta, adaptada de Kent e Kubica (1985), Kantor (1988), Grange *et al.* (1996), Manual¹ (2005) e Manual² (2005).

Realizadas as análises laboratoriais, os resultados e os dados do formulário de encaminhamento foram digitados em um banco de dados (Microsoft Access[®]) antes que o resultado final fosse encaminhado ao remetente da amostra.

3.7 - Variáveis utilizadas do formulário de encaminhamento

Algumas variáveis específicas, contidas no formulário (Anexo A), foram utilizadas: condição de recepção da amostra no laboratório e dados da amostra propriamente dita (campo II do formulário). Neste referido campo analisou-se: o Estado da Federação em que está localizada a propriedade de origem do animal; espécie animal (considerada apenas animais da espécie bovina); sexo; raça; idade; informações sobre a tuberculinização; destino do animal; casos de outras mortes

na propriedade; destino da carcaça; peças anatômicas enviadas ao laboratório; responsável e condições de envio das amostras para o laboratório. Todas estas variáveis foram as que interessaram serem analisadas, tendo em vista as hipóteses e objetivos da pesquisa.

Para as perguntas com respostas fechadas ou diretas, os dados foram tabulados para possibilitar maior facilidade na verificação das inter-relações. As perguntas abertas, contidas no formulário e destinadas à obtenção de respostas livres, possibilitaram recolher informações mais enriquecedoras e diversificadas. Entretanto, foram compiladas e analisadas com mais dificuldade. Enquadram-se nestes aspectos, a pergunta dois (raça e idade), a pergunta seis (outras mortes na propriedade – mesma espécie animal) e a pergunta nove (peças anatômicas enviadas ao laboratório).

3.7.1 - Peças anatômicas enviadas ao laboratório

Foi construída uma tabela baseada em Freitas *et al.* (2001) visando reunir e classificar os dados em subgrupos (Aparelho Respiratório, Conjunto Cabeça-Língua, Carcaça, Cavidade Abdominal e Mama). Os dados foram ordenados nas tabelas com relação à proximidade de nomenclatura apresentada no Acess. Os dados de positividade para *M. bovis* em relação à peça anatômica respectiva não foram confrontados. Esta impossibilidade se deu devido ao método de processamento das amostras e como o resultado foi fornecido no exame bacteriológico do laboratório. O resultado final foi fornecido por amostra e não por peça anatômica especificadamente.

Para a pergunta seis do formulário (Anexo A) com resposta assinalada como sim, optou-se por não processar os dados obtidos para a questão aberta (Em qual espécie?). Isto, devido às imprecisões e incoerências nas respostas escritas, o que poderia ocasionar falhas ou erros na interpretação.

3.7.2 - Origem do animal

Foram utilizados apenas os dados referentes ao Estado de origem do animal. As outras informações referentes a propriedade, proprietário, localização e município de procedência do animal foram suprimidas para manter o sigilo do remetente.

3.7.3 - Sexo

As amostras para diagnóstico bacteriológico foram distribuídas de acordo com o sexo dos bovinos que as originaram.

3.7.4 - Idade

As respostas obtidas no formulário foram dadas de duas formas: sob a forma de intervalos (24 a 36 meses, por exemplo) ou por números absolutos (por exemplo: 5 anos). Primeiramente, todas as respostas dadas em meses foram convertidas em anos. Em segundo, as idades foram classificadas de forma crescente. Em terceiro, foram construídas escalas de distribuição de frequência, escala estabelecida tendo como base os dados com valores absolutos. As respostas já expressas inicialmente sob a forma de intervalos foram incluídas nas escalas mais próximas aos intervalos correspondentes. Por exemplo: intervalos de 24 a 36 meses, incluído na escala de 2,5 –| 4,5 anos.

3.7.5 - Raça

Foi necessário agrupar as respostas em categorias. Respostas em que as raças foram nominadas diretamente no formulário (Nelore, Holandesa, Jersey, Pardo Suíço, Tabapuã, Girolando) – incluídas tais como estavam. Raças nominadas de HPB (Holandês Preto e Branco) e Holandês – incluídas como: Holandesa. Raças nominadas cruzamentos industriais, compostos, SRD (Sem Raça Definida) – incluídas como: Cruzamentos. Respostas em que o campo não foi preenchido – incluído como: Ignorado.

3.7.6 - Animal tuberculinizado

Foram utilizadas as informações referentes à execução ou não dos testes de tuberculinização preenchidas no formulário, assim como, os dados referentes ao critério de interpretação e valor das leituras.

3.8 - Análise Estatística

Visando arranjo e compreensões dos dados foram utilizadas medidas de frequências, segundo Sampaio (2007). Para a apresentação dos dados em tabelas e gráficos, empregou-se o programa Microsoft Office Excel 2007®.

Tabela 1 – Frequência dos perfis de diagnóstico bacteriológico de Tuberculose Bovina realizado no Laboratório Nacional Agropecuário em Pedro Leopoldo, Minas Gerais, 2004 a 2008.

Presença/ Ausência de Lesão	Perfil Microbiológico	Ano					Distribuição	Frequência Total (%)	Frequência por Parte (%)
		2004	2005	2006	2007	2008			
Presente	B+	22	37	40	115	346	560	64,3	80,9
	B-	7	15	21	18	71	132	15,2	19,1
	Subtotal	29	52	61	133	417	692	79,4	100,0
Ausente	B+	0	4	3	5	2	14	1,6	7,8
	B-	7	65	16	15	62	165	18,9	92,2
	Subtotal	7	69	19	20	64	179	20,6	100,0
Total		36	121	80	153	481	871	100,0	-

B+: Diagnóstico bacteriológico positivo para *M. bovis*;
B-: Diagnóstico bacteriológico negativo para *M. bovis*.

Segundo os critérios do LANAGRO/MG, a interpretação dos resultados foram os seguintes:

Foram consideradas lesões sugestivas, aquelas caseosas ou calcificadas, purulentas ou não. As lesões sugestivas apresentavam características nodulares, predominantemente hemorrágicas, de tamanhos e formas variadas.

A presença de colônias nos meios de Löwenstein-Jensen (LJ) caracterizadas como pequenas, arredondadas, de coloração amarela pálida, com borda irregular e superfície granular foram definidas como pertencentes ao gênero *Mycobacterium* sp e classificadas como típicas.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os resultados dos exames bacteriológicos de TB realizados no LANAGRO/MG nos anos de 2004 a 2008, frente à presença/ausência de lesões. Destaca-se que foram avaliadas para este critério um total de 871 amostras, o que representa um número bastante significativo em relação aos trabalhos realizados no Brasil. A partir destes resultados foi possível estabelecer um perfil do diagnóstico, bem como estipular sua frequência.

As amostras com isolamento de Bacilo Álcool-Ácido Resistente (BAAR) e com resultados compatíveis nos testes bioquímicos para *M. bovis*, foram consideradas positivas (B+).

As amostras com isolamento de BAAR e com resultados não compatíveis nos testes bioquímicos para *M. bovis*, bem como as amostras que não apresentaram Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) típicas, foram consideradas negativas (B-).

As amostras que apresentaram contaminação nos meios de cultura foram reprocessadas e, confirmada a contaminação após reprocessamento, a amostra foi considerada imprópria para análise, devido ao alto índice de

contaminação. O descontaminante empregado foi o ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 6% que se mostrou eficiente para o isolamento de *M. bovis* de acordo com Holanda *et al.* (2002) e Alencar *et al.* (2007).

Foi encontrada uma frequência alta, 65,9% (Tab.1), de positividade para o *M. bovis* no material enviado para o diagnóstico no laboratório. Freitas *et al.* (2001) isolaram o *M. bovis* em 67,3% nas amostras de tecidos, em um estudo anatomopatológico e microbiológico a respeito da tuberculose em búfalos abatidos para consumo. Os autores coletaram de um grupo de 113 animais com alterações sugestivas de tuberculose, 86 unidades amostrais distribuídas por peças de carcaças, órgãos e linfonodos. Para estes autores, e na literatura consultada por eles, a tuberculose em búfalos tem características muito semelhantes à de bovinos. Principalmente no que diz respeito ao agente e as lesões causadas. Embora, as lesões nos bovinos apresentem-se com coloração amarelada enquanto que as nos búfalos, esbranquiçada (Manual, 2006). Nassar *et al.* (2007) isolaram *M. bovis* em 64,3% do material coletado de 30 animais submetidos ao abate sanitário em um frigorífico. Ainda coletaram desses animais, 42 amostras compostas de linfonodos retrofaringeanos_independente ou não de lesões sugestivas de TB e linfonodos pré-escapulares, pulmão e fígado somente com lesões características de TB. Já Zanini *et al.* (2001) obtiveram percentual de 42,6% de *M. bovis* nas amostras de linfonodos (mediastinais e retrofaringeanos) de 54 bovinos abatidos oriundos de frigoríficos da região Sudeste do Brasil. Tendo sido coletado não mais que uma amostra por animal. É provável que este percentual reduzido no experimento de Zanini *et al.* (2001) comparado aos três estudos anteriores tenha sido decorrente da coleta de apenas uma amostra por animal e somente dos linfonodos mediastinais e retrofaringeanos. Visto que, uma boa parcela dos animais infectados apresentam uma única lesão de tuberculose e em alguns deles este único sítio está localizado fora da cavidade torácica (Corner *et al.*, 1990; Whipple *et al.*, 1996; Asseged *et al.*, 2004).

A frequência de amostras negativas na presença de lesões foi de 19,1% (Tab.1). Entretanto, Pinto *et al.* (2002) em uma pesquisa realizada com o objetivo de avaliar o desempenho do recurso microbiológico como apoio à inspeção post-mortem em bovinos, encontraram 38% das amostras com lesões típicas ou sugestivas, com ausência de micobactérias. Esta ausência poderia estar associada: ao baixo número de micobactérias encontradas nas lesões no momento da coleta das amostras; morte do agente durante a descontaminação das amostras; lesões causadas por outro micro-organismo; à dificuldade de isolamento de cepas de *M. bovis* utilizando o meio de cultura Löwenstein-Jensen (LJ) (Guia, 1989; Balian *et al.*, 1997; Hernandez De Anda *et al.*, 1997; Pinto *et al.*, 2002). Este meio, empregado nos dois trabalhos, contém glicerol que inibe o crescimento de *M. bovis*, quando presente nas amostras (Guia, 1989; Sakamoto *et al.*, 2008). Duas teorias poderiam explicar a diferença do percentual encontrado nos dois estudos. A primeira refere-se aos meios de culturas empregados. Empregou-se para o diagnóstico o meio LJ e o meio Stonebrink-Lesslie (SB), enquanto que Pinto *et al.* (2002) utilizaram no cultivo apenas o LJ. O meio SB é o preferencial para o *M. bovis* já que possui o piruvato, o qual estimula o crescimento desta espécie (Jorge, 2001; Sakamoto *et al.*, 2008). A segunda teoria diz respeito ao método de descontaminação das amostras. Foi empregado como descontaminante uma solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 6%, enquanto Pinto *et al.* (2002), utilizaram o hidróxido de sódio (NaOH) a 5%. O ácido sulfúrico mostrou-se estatisticamente superior em relação ao NaOH a 5% para a descontaminação e por consequência, mais eficiente no isolamento do *M. bovis* (Alencar *et al.*, 2007). A utilização do ácido sulfúrico a 6% como descontaminante, também pode ser justificada de acordo com Holanda *et al.* (2002), a qual determinou como sendo o mais eficiente e o menos tóxico para o *M. bovis* e para outras micobactérias não tuberculosas avaliadas, em comparação ao cloreto de cetilpiridínio 0,75%, cloreto benzalcônio 0,25% e ao ácido oxálico 5%.

Quanto à presença de lesão, 79,4% (Tab.1) do material apresentava lesões macroscópicas sugestivas de tuberculose. Pinto *et al.*(2002) encontraram 62% das amostras estudadas com lesões macroscópicas típicas ou sugestivas de tuberculose. Esta diferença pode estar ligada ao caráter, que não deixa de ser subjetivo, de avaliação das lesões. Elas podem ser muito discretas, em fases iniciais de infecção do animal, e passarem despercebidas as inspeções de alguns técnicos, enquanto a outros não (Corner, 1994; Whipple *et al.*, 1996; Cassidy *et al.*, 1999; Asseged *et al.*, 2004). Somam-se a este fato, lesões muito pequenas ou localizadas internamente no parênquima dos órgãos. Elas seriam detectadas com mais dificuldades se não fossem feitos cortes seriados e palpação (Corner *et al.*,1990; Cassidy, 2006).

O exame microbiológico foi capaz de determinar a ocorrência do *M. bovis* em 80,9% (Tab.1) quando se avalia apenas na presença de lesões. Portanto, a maioria das amostras com lesões sugestivas enviadas ao laboratório foi de fato, em virtude da TB. Mesmo assim, amostras com estas características devem continuar sendo enviadas para o diagnóstico definitivo, já que devem ser considerados outros agentes que causem lesões macroscopicamente indistinguíveis, ocasionando condenações desnecessárias e imprecisão nos dados de ocorrência da doença (Corner, 1994; Hernandez De Anda *et al.*, 1997; Sakamoto *et al.*, 2008). Uma pequena frequência de positividade, 7,8% (14/179), foi encontrada entre as amostras sem lesões (Tab.1).

Foram encontradas apenas 62 amostras impróprias para o isolamento, devido ao alto índice de contaminação, dentre todas as 933 pesquisadas, o que corresponde a 6,6% de amostras impróprias. Este baixo índice foi obtido graças à realização de um reprocessamento de amostras impróprias, ou seja, só após uma segunda tentativa

sem sucesso de isolamento, a amostra foi considerada imprópria. Já Zanini *et al.* (2001) observaram que 29,6% das amostras continham bactérias contaminantes. A diferença entre as porcentagens poderia ser explicada pelo fato de que Zanini *et al.* (2001), apesar de aplicarem o mesmo método de descontaminação as amostras, com solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 6%, não realizaram o reprocessamento daquelas que continham bactérias contaminantes.

A tabela 2 demonstra a distribuição das alterações macroscópicas sugestivas de TB nas peças anatômicas enviadas ao laboratório, para diagnóstico bacteriológico, nos anos de 2004 a 2008. Com a avaliação dos achados identificou-se quais foram os tecidos rotineiramente eleitos pelo Médico Veterinário, durante as inspeções sanitárias em frigoríficos ou em necropsias nas propriedades rurais, para posterior diagnóstico no laboratório. Como também, qual foi a distribuição das lesões nos respectivos tecidos.

Observa-se na tabela 2 que o aparelho respiratório apresentou a maior frequência de lesões (53,1%), seguida da carcaça (20,2%), cavidade abdominal (16,5%), conjunto cabeça-língua (8,3%) e mama (2,0%). No aparelho respiratório as alterações patológicas ficaram dispostas, obedecendo esta ordem: linfonodos pulmonares, linfonodos do mediastino e parênquima do pulmão. Na carcaça as lesões foram mais frequentes nos linfonodos escapulares. Na cavidade abdominal permaneceram no parênquima hepático, nos linfonodos intestinais e nos linfonodos hepáticos. No conjunto cabeça-língua situaram-se, quase na totalidade, nos linfonodos retrofaringeanos e sublinguais. E na mama, principalmente nos linfonodos mamários.

Tabela 2 - Distribuição das lesões macroscópicas sugestivas de Tuberculose Bovina nas peças anatómicas enviadas ao Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO/MG) para diagnóstico bacteriológico, 2004 a 2008.

Local	Ano					Total	%
	2004	2005	2006	2007	2008		
APARELHO RESPIRATÓRIO	35	50	78	138	341	642	53,1
Linfonodos Pulmonares ⁽¹⁾	0	0	0	19	219	238	19,7
Linfonodo Mediastínico	16	23	35	26	55	155	12,8
Parênquima Pulmonar	14	16	38	54	23	145	12,0
Linfonodo Traqueobrônquico	2	3	2	15	18	40	3,3
Linfonodo Esofágico	1	0	0	10	15	26	2,1
Linfonodo Apical	0	2	2	7	9	20	1,7
Diafragma (fragmento)	1	6	1	4	1	13	1,1
Pleura	1	0	0	3	1	5	0,4
CARÇAÇA	17	49	62	27	90	245	20,2
Linfonodo Pré-escapular	6	25	27	12	20	90	7,4
Linfonodo Pré-peitoral	4	12	12	13	15	56	4,6
Linfonodo Pré-crural	5	5	18	1	1	30	2,5
Linfonodo Ilíaco	2	2	2	1	22	29	2,4
Linfonodo Isquiático	0	1	0	0	22	23	1,9
Linfonodo Poplíteo	0	4	3	0	9	16	1,3
Linfonodo Inguinal	0	0	0	0	1	1	0,1
CAVIDADE ABDOMINAL	15	5	32	32	71	200	16,5
Parênquima Hepático (fígado)	7	1	25	15	36	84	6,9
Linfonodos Intestinais ⁽²⁾	0	0	0	0	0	45	3,7
Linfonodo Hepático	3	3	7	13	16	42	3,5
Intestinos (fragmentos)	3	0	0	0	12	15	1,2
Linfonodo Mesentérico	2	1	0	3	5	11	0,9
Baço	0	0	0	1	1	2	0,2
Linfonodo Suprarrenal	0	0	0	0	1	1	0,1
CONJUNTO CABEÇA-LÍNGUA	8	12	11	33	36	100	8,3
Linfonodo Retrofaringiano	8	8	8	18	20	62	5,1
Linfonodo Sublingual	0	3	0	6	8	17	1,4
Linfonodo Parotidiano	0	0	3	3	6	12	1,0
Glândula Sublingual	0	0	0	6	0	6	0,5
Linfonodo Atloídiano	0	0	0	0	2	2	0,2
Linfonodo Mandibular	0	1	0	0	0	1	0,1
MAMA	0	6	0	0	18	24	2,0
Linfonodos Mamários	0	6	0	0	13	19	1,6
Linfonodo Retromamário	0	0	0	0	5	5	0,4
TOTAL	75	122	183	230	556	1211	100,0

(1) Linfonodos Pulmonares e (2) Linfonodos Intestinais: nominados de acordo com o encontrado no banco de dados original.

A maior frequência de lesões em relação ao local afetado foi a do trato respiratório (53,1%). Este resultado reforça, conforme a literatura consultada, que a via aerógena seria a mais importante para infecção dos bovinos, já que é no trato respiratório, a região onde a incidência de lesões é maior (Rogers *et al.*, 1980; Corner, *et al.*, 1990; Whipple *et al.*, 1996; Palmer *et al.*, 1999; Freitas *et al.*, 2001; Sousa *et al.*, 2003).

Como exemplo cita-se Freitas *et al.* (2001) que observaram 60,3% de lesões no aparelho respiratório. A cabeça ocupou o quarto lugar entre as cinco regiões investigadas, com uma frequência observada de 8,3%. Porém, segundo descrevem os autores, Rogers *et al.* (1980); Corner, *et al.* (1990); Whipple *et al.* (1996); Palmer *et al.* (1999); Freitas *et al.* (2001); Sousa *et al.* (2003), a cabeça é a segunda

região que mais apresenta lesões em bovídeos com tuberculose. Freitas *et al.* (2001), por exemplo, descreveram 20,1% de presença de lesões no conjunto cabeça-língua. A carcaça assumiu a segunda colocação, entre as áreas com maior distribuição de lesões, com ocorrência de 20,2%. Para Freitas *et al.* (2001), a carcaça ocupou a terceira posição, sendo relatados por eles 9,6% na distribuição das lesões pelo corpo. A cavidade abdominal ocupou a terceira colocação, sendo encontrada uma distribuição de 16,5%. Segundo Freitas *et al.* (2001), a cavidade abdominal preenche a quarta posição, com uma frequência de 6,3%. E, finalmente, a região da mama, disposta em último lugar com percentual de 2,0%. De acordo com Freitas *et al.* (2001), o tecido mamário com 3,8% das lesões também ocupou o último lugar entre as áreas estudadas. Apesar das lesões da mama serem as menos frequentes, elas são importantes para a saúde pública e na transmissão da doença para animais jovens. Indiscutivelmente para Moda *et al.*, 1996 a ingestão, por meio de leite cru contaminado, constitui uma das principais formas de infecção humana pelo *Mycobacterium bovis*. A principal porta de entrada do agente em animais jovens também é a via digestiva, por meio da alimentação do leite de vacas com tuberculose na glândula mamária (Pritchard, 1988;_Abrahão, 1998).

Foram encontradas frequências de 12,8% para linfonodos mediastinais, 7,4% para linfonodos pré-escapulares, 0,9% para linfonodos mesentéricos e 1,9% para linfonodos isquiáticos. Foram avaliadas ocorrências com respeito aos órgãos/tecidos especificamente comprometidos. Freitas *et al.* (2001) encontraram 10% para linfonodos mediastinais; pré-escapular, 2,5%; mesentéricos, 0,8% e isquiáticos, 1,3%. Já Sousa *et al.* (2003) observaram 42,9% para linfonodos mediastinais; 14,5% no linfonodo pré-escapular; 5,9% nos linfonodos

mesentéricos e 3,7% nos linfonodos isquiáticos.

As justificativas para a diferença no percentual de linfonodos afetados e consequentemente, modificação da ordem da distribuição por região acometida poderiam estar ligadas a dois fatores: ao tamanho dos linfonodos inspecionados em cada região específica e rota de infecção pelo agente. A diferença no tamanho dos linfonodos poderia influenciar na identificação de lesões durante o processo de inspeção sanitária. Os linfonodos da região da cabeça, em geral, são menores quando comparados a outras regiões do corpo do animal. Apesar de que, na presença de massas caseosas, eles podem estar aumentados de volume até 10 vezes o tamanho normal (Paixão *et al.*, 2008). Mesmo assim, segundo Corner (1994), o objetivo principal do abate é manter a integridade da carne e detectar lesões que a tornam imprópria para o consumo. Assim sendo, a atenção maior na identificação de lesões de tuberculose, durante a inspeção, é dada a região da carcaça de onde provêm os cortes mais nobres. A rota de infecção pelo *M. bovis* também poderia justificar as modificações desta proporção. Segundo Phillips *et al.* (2003), em um estudo realizado na Austrália, conforme o clima da região amostrada, as lesões vão predominar em locais diferentes no corpo do animal. Na região de clima seco as lesões prevaleceriam no tórax, em contrapartida, na região de clima quente e úmido, elas predominariam no abdômen. Atribuiu-se esta transmissão à ingestão de pasto contaminado com *M. bovis*. Isto poderia explicar o predomínio de alterações na cavidade abdominal em relação ao conjunto cabeça-língua.

A tabela 3 apresenta a frequência de envio de amostras por região do Brasil. A sua análise possibilitou identificar qual região do país provêm o maior número de amostras para diagnóstico.

Tabela 3 - Frequência de amostras recebidas para diagnóstico bacteriológico de Tuberculose Bovina no Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO/MG) por região do Brasil, 2004 a 2008.

Regiões	Ano					Total	%
	2004	2005	2006	2007	2008		
SUDESTE							
Minas Gerais (MG)	51	86	85	168	522	912	89,3
Rio de Janeiro (RJ)	0	1	0	1	0	2	0,2
São Paulo (SP)	1	0	0	0	0	1	0,1
Espírito Santo (ES)	0	0	0	0	0	0	0,0
Subtotal	52	87	85	169	522	915	89,6
CENTRO-OESTE							
Goiás (GO)	0	12	0	1	16	29	2,8
Mato Grosso (MT)	1	0	0	0	4	5	0,5
Distrito Federal (DF)	0	4	0	0	0	4	0,4
Mato Grosso do Sul (MS)	0	0	0	0	0	0	0,0
Subtotal	1	16	0	1	20	38	3,7
NORTE							
Acre (AC)	0	12	0	5	0	17	1,7
Tocantins (TO)	0	0	0	11	0	11	1,1
Pará (PA)	0	0	0	5	0	5	0,5
Amapá (AP)	0	0	0	0	0	0	0,0
Amazonas (AM)	0	0	0	0	0	0	0,0
Rondônia (RO)	0	0	0	0	0	0	0,0
Roraima (RR)	0	0	0	0	0	0	0,0
Subtotal	0	12	0	21	0	33	3,2
SUL							
Paraná (PR)	0	18	0	0	0	18	1,8
Santa Catarina (SC)	0	0	1	0	4	5	0,5
Rio Grande do Sul (RS)	0	0	0	0	0	0	0,0
Subtotal	0	18	1	0	4	23	2,3
NORDESTE							
Alagoas (AL)	0	0	0	0	0	0	0,0
Bahia (BA)	0	0	0	0	0	0	0,0
Ceará (CE)	0	0	0	0	0	0	0,0
Maranhão (MA)	0	0	0	0	0	0	0,0
Paraíba (PB)	0	0	0	0	0	0	0,0
Pernambuco (PE)	0	0	0	0	0	0	0,0
Piauí (PI)	0	0	0	0	0	0	0,0
Rio Grande do Norte (RN)	0	0	0	0	0	0	0,0
Sergipe (SE)	0	0	0	0	0	0	0,0
Subtotal	0	0	0	0	0	0	0,0
Sem especificação ⁽¹⁾	0	0	0	5	7	12	1,2
TOTAL	53	133	86	196	553	1021	100,0

(1) Refere-se às amostras que foram remetidas sem o preenchimento no formulário do Estado de Origem.

Nota-se que o laboratório recebeu material com mais frequência da região Sudeste do país (89,6%). Seguido da região Centro-Oeste (3,7%), Norte (3,2%), Sul (2,3%), sem especificação ou não informado (1,2%) e a região Nordeste, sem registro de recebimento durante o período de avaliado (Tab. 3). Destes, o estado de Minas Gerais foi responsável por 89,3% do total de amostras recebidas no LANAGRO/MG. O segundo Estado do país em que foi registrado maior número de amostras recebidas foi o de Goiás com 2,8%, localizado na região Centro-Oeste. O Paraná, no sul do país, o terceiro com 1,8%. Foram recebidos tecidos/órgãos para diagnóstico somente de três Estados, dos sete que compõem a região Norte: Acre, Tocantins e Pará. Com proporções de 1,7%; 1,1% e 0,5%, respectivamente (Tab. 3).

Abaixo, foram elaboradas algumas hipóteses na tentativa de explicar a predominância de Minas Gerais, no recebimento de material para diagnóstico no laboratório:

- Em virtude de alguns cursos de treinamento no PNCEBT terem acontecido nas dependências do próprio LANAGRO/MG e destinados aos profissionais do próprio estado, fossem eles, fiscais do serviço de defesa animal, tanto estaduais - Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), federais - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) ou veterinários autônomos, ocorreria a divulgação das atividades de diagnóstico bacteriológico e o estímulo aos médicos veterinários treinados para o envio de material ao laboratório.

- Uma quantidade expressiva de amostras encaminhadas por um número reduzido de frigoríficos que estariam realizando o abate com a “eliminação” de animais positivos a tuberculinização, com o objetivo de saneamento clandestino de rebanhos.
- A concentração de frigoríficos sob inspeção federal (SIF) e/ou abatedouros municipais, dentro do estado de Minas Gerais, poderia ser outra hipótese para explicar a maior frequência de recebimento de material por este estado. Contudo, de acordo com a tabela 4, é na região Centro-Oeste e não na Sudeste que se concentram o maior número de frigoríficos sob inspeção federal (SIF) no Brasil.

Tabela 4 - Distribuição espacial dos frigoríficos sob inspeção federal (SIF) – Brasil, 2005

Regiões	Total	%
Centro-Oeste	96	33,8
Sudeste	75	26,4
Sul	62	21,8
Norte	35	12,3
Nordeste	16	5,63
Total	284	100

Fonte: Adaptado da (Distribuição, 2005).

A tabela 5 e as figuras 3 e 4, abaixo, apresentam a distribuição dos animais em relação ao sexo, idade e raça, respectivamente.

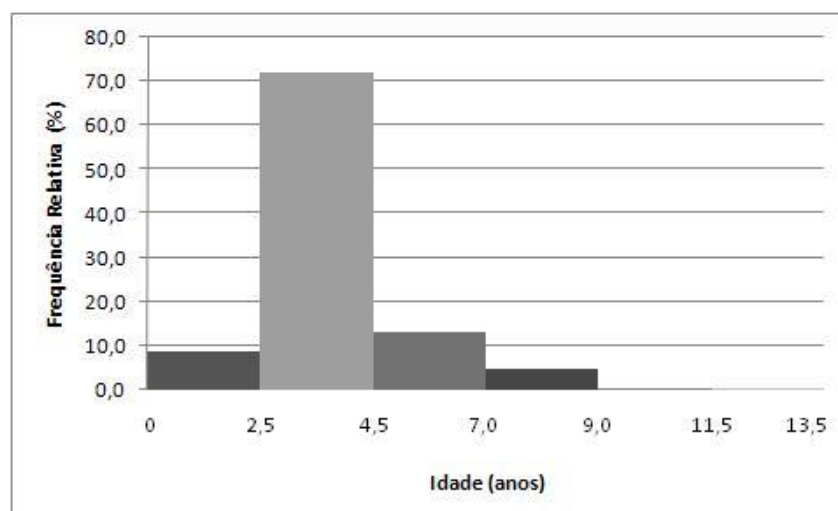
Tabela 5 - Frequência das lesões em relação ao sexo dos bovinos – Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO/MG), 2004 a 2008.

Sexo	Lesão				Total
	Ausente		Presente		
	N	%	N	%	
Fêmea	152	15,5	505	51,6	657
Sem especificação	2	0,2	36	3,7	38
Macho	32	3,3	251	25,7	283
Total	186	19,0	792	81,0	978

N: Número de amostras.

O total de amostras advindas de fêmeas, 67% (657/978) foi maior que o de machos, 29% (283/978). Entre as fêmeas, 51,6% apresentaram amostras com a presença de lesões e 15,5% sem lesões. Entre os machos, 25,7% com presença de alterações

patológicas e 3,3% com ausência de alterações (Tab.5). Cerca de 4% (38/978) dos formulários encaminhados ao laboratório, não continham o campo sexo preenchido.

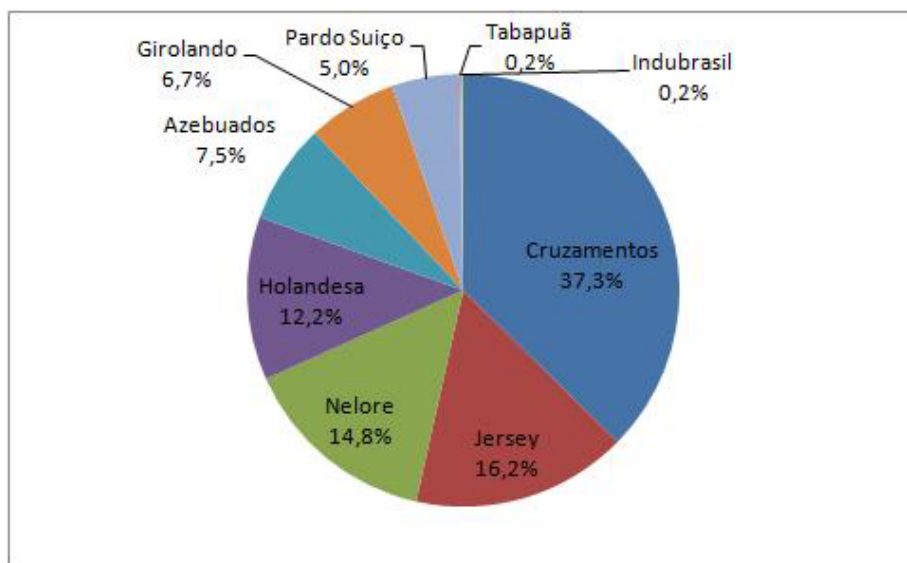


Nota: Não foram incluídos no gráfico os dados do campo sem especificação de idade (11,4%).

Figura 3 - Distribuição da frequência de idade dos bovinos com diagnóstico bacteriológico positivo para Tuberculose Bovina – Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/MG), 2004 a 2008.

A figura 3 indica que existe uma maior ocorrência de TB entre os animais de faixa etária superior aos dois anos e meio até quatro anos e meio (72,2%). A faixa acima de quatro anos e meio até sete anos é a segunda de maior ocorrência com uma distribuição de 13%. Em terceiro estão os animais com idade até dois anos e meio (8,8%). Estes resultados comprovam o

caráter crônico da TB, visto que a doença concentra-se entre os animais de faixa etária acima de dois anos e meio até sete anos (85,2%). Baptista (1999) observou uma associação semelhante entre categoria (vaca, novilhos e novilhas) e idade animal com lesões compatíveis de tuberculose. O autor encontrou uma prevalência 3,5 vezes maior em vacas que em novilhos e novilhas.



Nota: Não foram incluídos no gráfico os dados com o campo sem especificação de raça (35,7%).

Figura 4 - Distribuição da frequência das raças dos bovinos que originaram amostras para diagnóstico bacteriológico de Tuberculose Bovina – Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/MG), 2004 a 2008.

A Figura 4 evidencia que os bovinos frutos de cruzamentos são os que originaram maior percentual de amostras para bacteriologia de TB (37,3%). Entre os de raça pura, aparece a Jersey (16,2%), Nelore (14,8%) e Holandesa (12,2%) como as três raças que mais contribuem com material para o laboratório. É importante destacar que os bovinos com aptidão leiteira (Jersey, Holandesa, Girolando e Pardo Suíço) perfazem cerca de 40% do total das nove raças estudadas.

A consulta bibliográfica envolvendo levantamentos a respeito da predisposição da doença demonstra que a TB propaga-se independentemente entre sexo, raça e idade (Griffin e Dolan, 1995). Os resultados encontrados na tabela 5 e nas figuras 3 e 4 indicam, porém, que existe uma maior frequência de amostras de fêmeas de raças leiteiras e com idade acima de dois anos e meio até sete anos. Foram recebidas no laboratório, entre as cinco regiões existentes no Brasil, mais amostras da

região Sudeste. O estado de Minas Gerais contribuiu com praticamente todas as amostras recebidas pela região Sudeste (Tab. 3). Minas possui vocação principalmente para a pecuária de leite, portanto é de se esperar uma prevalência superior da doença entre os animais de rebanhos leiteiros (Baptista, 1999). Desse modo, haveria um maior fluxo direcionado aos frigoríficos mineiros de vacas de descarte. Isto poderia explicar então, o motivo da maior ocorrência de amostras com este perfil de sexo, raça e idade definidos.

As tabelas 6 e 7 apresentam, respectivamente, os dados referentes à realização e o resultado do exame tuberculínico nos bovinos que originaram amostras para bacteriologia do LANAGRO/MG. A tabela 8 apresenta resultados destes exames de tuberculinização que podem ser proveitosos na investigação frente ao comportamento do diagnóstico microbiológico.

Tabela 6 - Dados referentes à tuberculinização de bovinos que originaram amostras para bacteriologia de Tuberculose Bovina – Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/MG), 2004 a 2008.

Tuberculinização	Ano					Total	%
	2004	2005	2006	2007	2008		
Sem especificação ⁽¹⁾	8	5	6	33	94	146	14,3
Não	6	8	14	29	72	129	12,6
Não se sabe ⁽²⁾	38	76	37	57	311	519	50,8
Sim	1	44	29	77	75	226	22,2

(1) Formulários recebidos sem informações no campo referente à realização do exame tuberculínico.

(2) Assinalado quando não se conhece o histórico prévio de tuberculinizações realizadas no animal.

Tabela 7 - Resultados dos exames de tuberculinização dos bovinos que originaram amostras para diagnóstico bacteriológico de Tuberculose Bovina – Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/MG), 2004 a 2008.

Resultados	Ano					Total	%
	2004	2005	2006	2007	2008		
Positivos	1	16	8	11	16	52	23,0
Inconclusivos	0	18	0	0	2	20	8,8
Negativos	0	5	0	0	0	5	2,2
Sem especificação ⁽¹⁾	0	5	21	66	57	149	65,9

(1) Os campos referentes aos resultados dos exames de tuberculinização não foram preenchidos.

Tabela 8 - Resultados bacteriológicos de Tuberculose Bovina de bovinos, segundo a sua reação à tuberculinização – Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/MG), 2004 a 2008.

Teste		Isolamento				Total
		Positivo	%	Negativo	%	
Tuberculinização	Positiva	29	55,8	14	26,9	43
	Inconclusivo	4	7,7	5	9,6	9
	Total	33	63,5	19	36,5	52

Somente 22,2% (226/1020) de animais procedentes de matadouros sob inspeção sanitária ou de estabelecimentos de criação apresentaram histórico de algum exame de tuberculinização realizado (Tab. 6). Destes, 23% (52/226) foram considerados positivos; 8,8% (20/226) inconclusivos e apenas 2,2% (5/226) negativos (Tab. 7). Um grande percentual de formulários, 65,1% (665/1020), foi enviado com o campo animal tuberculinizado não preenchido ou sem histórico do exame (Tab. 6). Simplesmente

porque a informação foi ignorada ou realmente não se conhecia o histórico das provas realizadas no animal. Com respeito ao resultado do teste alérgico, a maioria das fichas, 65,9% (149/226), em que foram informadas que o animal foi tuberculinizado, não constava o valor das leituras ou a interpretação da prova (Tab. 7). Isto poderia ser justificado, em parte, pelo fato de que, de acordo com o PNCEBT, em bovinos de corte, pode-se realizar o teste da prega caudal (TPC) para triagem ou

monitoramento do rebanho, porém, só existe na ficha (Anexo A) o “campo” para os resultados do teste cervical comparativo (TCC). Apesar disto, estes achados reforçam a necessidade de que todo o material colhido deve ser conduzido ao laboratório acompanhado do formulário (Anexo A) e preenchido com o maior número de informações possíveis referente ao caso (Manual, 2006).

De acordo com a tabela 8, o *M. bovis* foi isolado em 55,8% dos bovinos com resultado positivo à tuberculinização. Em contrapartida, 26,9% dos casos em que o teste foi considerado positivo, não se conseguiu isolar o bacilo. Dos animais interpretados como inconclusivos a prova, em apenas 7,7% e 9,6% apresentaram isolamento positivo e negativo, respectivamente. Estes resultados obtidos foram semelhantes aos de Pinto *et al.* (2002) que examinaram um grupo de 48 animais reagentes ou suspeitos à prova de tuberculinização intradérmica ano-caudal e comparativa cervical, procedentes de uma propriedade em Viçosa - MG. Coletaram-se amostras das lesões macroscópicas sugestivas de tuberculose, que foram submetidas ao exame anatomopatológico e microbiológico. Os autores encontraram os seguintes percentuais: 44% de animais positivos à tuberculinização e com exame microbiológico também positivo; 24% de positivos à tuberculinização e microbiológico negativo; 18% e 14% de inconclusivos à tuberculinização com microbiológico positivo e negativo, respectivamente. Nota-se que o diagnóstico bacteriológico apresentou uma equivalência relativamente baixa frente ao teste tuberculínico (55,8%), assim como apresentado por Pinto *et al.* (2002) com equivalência encontrada de 44%. Estes resultados podem ser atribuídos à baixa sensibilidade do exame bacteriológico frente ao teste alérgico em virtude da reduzida quantidade do agente nas lesões no momento da colheita de amostras ou ainda a dificuldades inerentes ao isolamento do *M. bovis*, eventualmente presente nas amostras, devido ao alto grau contaminação destas durante a colheita do material. (Fráguas, 2008). A reação tuberculínica e a bacteriologia são métodos utilizados na

rotina, entretanto, não possuem uma eficácia absoluta e devem ser usados adequadamente para cada situação epidemiológica no diagnóstico da tuberculose bovina (Mota *et al.*, 2008).

Em relação ao destino final dos bovinos que originaram amostras para diagnóstico bacteriológico de TB, 96,2% (968/1006) das amostras foram provenientes de animais abatidos. A maioria destes, 50,8%, chegaram aos estabelecimentos de abate, sem histórico de diagnóstico alérgico prévio (Tab. 6). Estes dados são indicativos de que não ocorreu o abate sanitário destes animais. Os indivíduos foram descobertos com suspeita da doença, nestes casos, durante a inspeção minuciosa das vísceras, linfonodos e carcaças.

Uma pequena parcela dos bovinos que originaram amostras para diagnóstico no laboratório, 3,4% (35/1006), foram sacrificados dentro da própria unidade de criação. De acordo com o PNCEBT, na impossibilidade de sacrifício de animais reagentes positivos em frigoríficos sob inspeção oficial, este ato deve ocorrer na propriedade onde se encontra o bovino. Opta-se por método que assegure uma morte rápida e sem espalhamento de sangue, sob supervisão veterinária oficial e seguidas às recomendações dos órgãos locais responsáveis pelo meio ambiente (Brasil, 2004; Manual, 2006). Ressalta-se que é necessário o esforço conjunto dos médicos veterinários privados e oficiais para eliminar esses bovinos em concordância com o preconizado pelo PNCEBT (Alves *et al.*, 2008).

Ainda referente ao destino final dos animais, obteve-se resultado de 0,3% (3/1006) de amostras de animais encontrados mortos na propriedade. Estas amostras enviadas foram de animais necropsiados no campo e mortos, possivelmente, em decorrência das alterações patológicas crônicas nos órgãos e linfonodos causadas pela TB. Para a realização destas necropsias pelo médico veterinário é imprescindível o uso de equipamentos de proteção individual (máscaras, luvas e óculos), além da descontaminação dos materiais utilizados

(instrumentos de necropsia, botas, vestimentas, etc.). Recomendando-se para a descontaminação, por exemplo, a imersão em desinfetantes químicos (Manual, 2006).

Quanto à frequência de outras mortes ou casos em decorrência da TB que aconteceram na propriedade foram notificados, por meio dos formulários (Anexo A) recebidos, as seguintes ocorrências: em 14,4% (127/881) e em 38,8% (324/881) das vezes ocorreram e não ocorreram outras mortes ou casos da doença, respectivamente. É evidente que estes dados não podem ser comprovados, se não foram feitos testes para confirmar o diagnóstico. No Brasil ainda é comum encontrar rebanhos com grande número de animais infectados, porém a tendência atualmente é de poucos bovinos contaminados por rebanho. (Heinemann *et al.*, 2008). Destaca-se também que o preenchimento do formulário foi feito, na maioria das vezes, pelos fiscais do Serviço de Inspeção Federal (SIF) e Serviço de Inspeção Municipal (SIM) durante o abate do animal, portanto podem não conter todas as informações do restante do rebanho, o que justificaria as 46,8% (412/881) de respostas sem especificação para esta pergunta.

Em relação ao destino das carcaças foram encontradas as seguintes frequências: a condenação total foi citada em 77,5% (779/1005); condenação parcial em 12,7% (128/1005); destruição na propriedade em 2,7% (27/1005) e não responderam ou omitiram a informação em 7,1% (71/1005) dos casos. Somando-se aos resultados de condenação total e parcial encontram-se, 90,2%. Estes números dão ideia do imenso prejuízo econômico que recai sobre os bovinocultores e frigoríficos/matadouros do país em decorrência da TB. Sem contar, é claro, com os riscos inerentes à saúde de todas as pessoas que manipularam as carcaças contaminadas. Baptista (1999) encontrou números diferentes, porém ocasionando impactos econômicos semelhantes. O autor observou que a TB respondeu a apenas 1,86% dos aproveitamentos condicionais das carcaças, mas ocupou o primeiro lugar na condenação

destas para a graxaria. A doença foi a principal causa do prejuízo por condenação de carcaças, respondendo por 28,23%, como também a segunda mais frequente nos registros dos exames *ante* e *post-mortem* nos frigoríficos de Minas Gerais sujeitos à Inspeção Federal.

Aproximadamente 3% das carcaças foram destruídas na propriedade. Este procedimento é aceito no manual do PNCEBT, desde que obedecidas às exigências já mencionadas acima. O animal sacrificado deve ser enterrado em uma cova feita em terreno estável e seco, distante de poços e cursos de água, de nascentes e de bebedouros, para se evitar a contaminação do lençol freático. A carcaça será recoberta por um estrato de terra de aproximadamente dois metros, impedindo que animais escavadores e minhocas tragam os patógenos para a superfície (Manual, 2006). Tal procedimento é de difícil execução, além de oneroso para os criadores e exige, em algumas ocasiões, muito empenho dos médicos veterinários oficiais para que seja cumprido.

Foram encontradas as seguintes frequências de encaminhamento de amostras para o laboratório: 93,7% (948/1012) foram congeladas e 6,3% (64/1012) resfriadas. Destes, quase a totalidade (99,6%) das amostras chegaram em condições satisfatórias de análise. As condições ideais para recebimento de amostras biológicas, segundo a metodologia deste laboratório são as seguintes: fragmentos de tecidos sem sinais aparentes de decomposição acondicionados em frascos de boca larga, envolto por um saco plástico e dentro de uma caixa de isopor com gelo a uma temperatura de 2 a 8°C. Notou-se que o acondicionamento das amostras mesmo congeladas ou resfriadas, como recomendado pelo laboratório, foi determinante para a boa qualidade do material recebido para análise. Apenas 0,4% destas amostras foram recebidas em condições insatisfatórias para o diagnóstico. É importante considerar que a qualidade da amostra recebida varia de acordo com o tipo de material, a forma como ele foi coletado e o tempo de transporte até o laboratório (Corner, 1994).

5 - CONCLUSÕES

A execução deste trabalho de pesquisa possibilitou a caracterização epidemiológica dos resultados de diagnóstico bacteriológico de TB realizados no LANAGRO/MG. Espera-se que ele contribua com o PNCEBT para ampliar os conhecimentos a respeito do comportamento desta importante enfermidade no Brasil.

A frequência de amostras com resultado positivo para *M. bovis* é alta no material enviado para diagnóstico da tuberculose bovina. Das peças anatômicas remetidas ao laboratório, foi no trato respiratório que se distribui a maior parte das lesões sugestivas de TB, seguida pela carcaça, cavidade abdominal, conjunto cabeça-língua e mama. As amostras para diagnóstico bacteriológico enviadas ao laboratório foram, em sua maior parte, oriundas da região Sudeste do Brasil, sendo Minas Gerais, o estado responsável por praticamente todo o material encaminhado. O perfil dos bovinos que originam amostras para o laboratório e no qual se distribuem as lesões de TB foi composto, na maioria, por: fêmeas de raças leiteiras e com faixa etária acima de dois anos e meio até sete anos. Estes animais foram abatidos, na maior parte das vezes, sem histórico de exame de tuberculinização realizado. Os prejuízos econômicos decorrentes da TB e os riscos à saúde pública são grandes. Isto, em virtude da condenação das carcaças com lesões provocadas pela doença, além dos perigos as quais as pessoas que as manipularam foram submetidas.

Um dos requisitos importantes para que o controle e erradicação da TB continuem avançando no país é a coleta de informações precisas sobre a doença. É necessária, então, atenção especial ao formulário (Anexo A), que acompanha as amostras para diagnóstico. Tanto no que diz respeito ao preenchimento correto pelos profissionais habilitados, quanto, até mesmo, na elaboração de um novo documento pelo MAPA. Uma nova ficha, contendo o máximo de campos com perguntas fechadas, possibilitaria respostas mais precisas e facilitaria que as

informações fossem completadas adequadamente. Estas respostas seriam, posteriormente, codificadas e analisadas mais prontamente, propiciando uma fonte de dados essencial para a vigilância epidemiológica e futuros inquéritos epidemiológicos da tuberculose bovina.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A TUBERCULOSE bovina como zoonose. Associação Brasileira de Buiatria. 2002. Disponível em: <<http://www.technovet.com.br/buiatria/tbvnet/tbzoon.htm>>. Acesso em: 19/02/2009.

ABRAHÃO, R.M.C.M. *Tuberculose humana causada pelo Mycobacterium bovis: considerações gerais e a importância dos reservatórios animais*. 1998. 17f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo.

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. *Arch. Vet. Sci.*, v. 10, n. 2, p. 1-17, 2005.

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. In: *Bacteriosis: Tuberculosis zoonótica*. 2.ed. Local: Organization Mundial de la Salud. 1986. p. 174-185.

ALENCAR, A.P.; MOTA, P.M.P.C.; FERREIRA, R. *et al.* Comparação Entre Métodos de Descontaminação para Isolamento de *M. bovis* de Tecidos Animais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 24., 2007, Brasília: Anais.... Brasília, 2007.

ALMEIDA, R.F.C. *Testes diagnósticos "in vivo", "in vitro" e investigação epidemiológica da tuberculose bovina*. 2004. 45f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande.

- ALVES, C.M.; GONÇALVES, V.S.P.; MOTA, P.M.P.C. *et al.* Controle da tuberculose bovina. *Cad. Téc. Vet. Zoot.*, n. 59, p. 69-81, 2008.
- ASSEGED, B.; LÜBKE-BECKER, A.; LEMMA, E. *et al.* Bovine tuberculosis: a cross sectional and epidemiological study in and around Addis Abbaba. *Bull. Anim. Health Prod. Afr.*, v. 48, p.71-80, 2000.
- ASSEGED, B.; WOLDESENBET, Z.; YIMER, E. *et al.* Evaluation of abattoir inspection for the diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle at Addis Abada abattoir. *Trop. Anim. Health Prod.*, v. 36, n. 6, p. 537-546, 2004.
- BALIAN, S.C.; RIBEIRO, P.; VASCONCELLOS, S.A. *et al.* Linfadenites tuberculóides em suínos abatidos no Estado de São Paulo, Brasil: aspectos macroscópicos, histopatológicos e pesquisa de micobactérias. *Rev. Saúde Pública*, v. 31, n.4, p. 391-397, 1997.
- BAPTISTA, F. *Tuberculose e outras causas de condenação de bovinos em frigoríficos de Minas Gerais, Brasil. 1999.* 51f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- BELCHIOR, A.P.C. *Prevalência, distribuição regional e fatores de risco da tuberculose bovina em Minas Gerais. 2001.* 55f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva e Epidemiologia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- BIANCHINI, W.; RODRIGUES, E. Tuberculose em animais domésticos. *PUBVET*, v. 2, n. 2, p. 1-31, 2008. Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/texto.php?id=113>>. Acesso em: 30/02/2009.
- BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 6 de 8 de janeiro de 2004. Aprova o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 12 de janeiro de 2004. Secção 1, p. 6-10. 2004.
- BRUNINI SOBRINHO, R. Tuberculose no homem e nos animais. *Casa Agric.*, v. 10, n. 2, p. 8-17, 1988.
- CAFFREY, J.P. Status of tuberculosis eradication programmes in Europe. *Vet. Microbiol.*, v. 40, n2, p. 1-4, 1994.
- CASSIDY, J.P. The pathogenesis and pathology of bovine tuberculosis with insights from studies of tuberculosis in humans an laboratory animal models. *Vet. Microbiol.*, v. 112, n. 2, p. 151-161, 2006.
- CASSIDY, J.P.; BRYSON, D.G.; POLLOCK, J.M. *et al.* Lesions in cattle exposed to *Mycobacterium bovis*-inoculated calves. *J. Comp. Pathol.*, v. 121, n. 4, p. 321-337, 1999.
- COLLINS, C.H.; GRANGE, J.M. The bovine tubercle bacillus: a review. *J. Appl. Bacteriol.*,v. 55, n. 1, p. 13-29, 1983.
- COLLINS, D.M. Virulence factors of *Mycobacterium bovis*. *Tuberc.* v. 81, n. 2, p. 97-102, 2001.
- CORNER, L.; MELVILLE, L.; MCCUBBIN, K. *et al.* Efficiency of inspection procedures for the detection of tuberculous lesions in cattle. *Aust. Vet. J.*, v. 67, n. 11, p. 398-392, 1990.
- CORNER, L.A. Post mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Vet. Microbiol.*, v. 40, n. 1, p. 53-63, 1994.
- COSIVI, O; GRANGE, J.M.; DABORN, C.J. *et al.* Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. *Emerg. Inf. Dis.*, v. 4, n. 1, p. 1-16, 1998.
- DE LISLE, G.W.; MACKINTOSH C.G.; BENGIS, R.G. *Mycobacterium bovis* in free-living and captive wildlife, including farmed deer. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, v. 20, n. 1, p. 86-111, 2001.

DISTRIBUIÇÃO da TB no Mundo de janeiro a junho de 2005. Base de datos del sistema mundial de información zoonitaria (WAHID). 1 Mapa, color. Disponível em: <http://www.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_map&disease_type=Terrestrial&disease_id=32&disease_category_terrestrial=0&=999999&disease_category_aquatic=0&disease_serotype=0&sta_method=semesterly&selected_start_year=2005&selected_report_period=1&selected_start_month=1&page=disease_status_map&date_submit=OK>. 2009. Acesso em: 21/05/2009.

DISTRIBUIÇÃO da TB no Mundo de janeiro a junho de 2008. Base de datos del sistema mundial de información zoonitaria (WAHID). 1 Mapa, color. Disponível em: <http://www.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_map&disease_type=Terrestrial&disease_id=32&=999999&disease_serotype=0&sta_method=semesterly&selected_start_year=2008&selected_report_period=1&selected_start_month=1&page=disease_status_map&date_submit=OK>. 2009. Acesso em: 21/05/2009.

DISTRIBUIÇÃO espacial dos frigoríficos sob inspeção federal (SIF) – Brasil. 2005. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), 1 Tabela. Disponível em: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/doc/doc151/infraestrutura.htm>>. Acesso em: 07/08/2009.

ESSEY, M.A.; KOLLER, M.A. Status of bovine tuberculosis in North America. *Vet. Microbiol.*, v. 40, n. 2, p.15-22, 1994.

FELDMAN, J. *Tuberculose Humana de origem bovina*. 1955. 239f. Tese (Concurso para catedrático de fisiologia). Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

FERREIRA-NETO, J.S.; BERNARDI, F. Control of bovine tuberculosis, particularly in Brazil. *Hig. Alim.*, v. 1, n. 47, p. 9-13, 1997.

FLAMAND, J.R.B.; GRETH, A.; HAAGSMA, J. *et al.* An outbreak of tuberculosis in a captive herd of arabian oryx (*Oryx leucoryx*): diagnosis and monitoring. *Vet. Rec.*, v. 134, n. 5, p. 115-118, 1994.

FRÁGUAS, S.A.; CUNHA-ABREU, M.S.; FERREIRA, A.M.R. *et al.* Estudo comparativo de métodos complementares para o diagnóstico da tuberculose bovina em animais reagentes à tuberculinização. *R. bras. Ci. Vet.*, v. 15, n. 3, p. 117-121, 2008.

FRANCO, R.M.; CAVALCANTI, R.M.S.; WOOD, P.C.B. *et al.* Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de leite e derivados. *Hig. Alim.*, v. 14, n. 68, p. 70-74, 2000.

FREITAS, J.A.; GUERRA J.L.; PANETTA J.C. Características da tuberculose observada em búfalos abatidos para consumo: aspectos patológicos e identificação de micobactérias. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v. 38, n. 4, p. 170-176, 2001.

GOMES, M.J.P. *Bacteriologia 2008: Gênero Mycobacterium spp.* Faculdade de Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2008. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/labacvet/vet-3225.htm>>. Acesso em: 28/02/2009.

GOODCHILD, A.V.; CLIFTON-HADLEY, R.S. Cattle-to-cattle transmission of *Mycobacterium bovis*. *Tuberc.*, v. 81, n. 1, p. 23-41, 2001.

GORMLEY, E.; COLLINS, J.D. The development of wildlife control strategies for eradication of tuberculosis in cattle in Ireland. *Tubercle Lung Dis.*, v. 80, n. 4, p. 229-236, 2000.

GRANGE, J.M.; YATES, M.D. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* infection. *Vet. Microbiol.*, v. 40, n. 1, p. 51-137, 1994.

GRANGE, J.M.; YATES, M.D.; KANTOR, I.N. *Guidelines for speciation within the Mycobacterium tuberculosis complex*. 2. ed. Local: WHO/EMC/ZOO, 1996. 18p.

GRIFFIN, J.M.; DOLAN, L.A. The role of cattle-to-cattle transmission of *Mycobacterium bovis* in the epidemiology of tuberculosis in cattle in Republic of Ireland: a review. *Irish. Vet. J.*, v. 48, n. 6, p. 228-234, 1995.

GRIFFIN, J.M.; MARTIN, S.W.; THORBUM, M.A. *et al.* A case-control study on the association of selected risk factors with the occurrence of bovine tuberculosis in the Republic of Ireland. *Prev. Vet. Med.*, v.27, n. 3, p.217-229, 1996.

GUIA para projetos de tuberculose bovina. Buenos Aires. Centro Panamericano de Zoonosis (CEPANZO),1989. 44 p. (Nota Técnica n.15).

HEINEMANN, M.B.; MOTA, P.M.P.C.; LOBATO, F.C.F. *et al.* Tuberculose bovina: introdução à etiologia, cadeia epidemiológica, patogenia e sinais clínicos. *Cad. Téc. Vet. Zoot.*, n. 59, p.1-12, 2008.

HERNANDEZ DE ANDA, J; EVANGELISTA, T.R.; VALENCIA, G.L. *et al.* Na abattoir monitoring system for diagnosis of tuberculosis in cattle in Baja California, Mexico. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 211, n. 6, p. 709-711, 1997.

HOLANDA, E.D.; LOBATO, F.C.F.; MOTA, P.M.P.C. *et al.* Avaliação de métodos de descontaminação para isolamento de *Mycobacterium bovis*. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v. 24, n. 2, p. 54-57, 2002.

JORGE, K.S.G. *Aplicação de testes específicos e presuntivos para o diagnóstico da tuberculose bovina no estado de Mato Grosso do Sul. 2001.* 73f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) – Fundação Oswaldo Cruz, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande.

KANTOR, I.N. *Bacteriologia de la tuberculosis humana y animal.* Buenos Aires: Centro Panamericano de Zoonosis. 1988. 63p. (Nota técnica n. 11).

KENT, P.T.; KUBICA, G.P. *Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory.* Atlanta: Centers for Disease Control. 1985. 207p.

KLEEBERG, H.H. Human health tuberculosis of bovine origin in relation to public. *Rev. Sci. Tec. OIE*, v. 3, n. 1, p. 1-32, 1984.

KONYHA, L.D.; HIMES, E.M.; THOEN, C.O. Bovine tuberculosis. In: STEELE, J.H.; STOENNER, H.; KAPLAN, W. (Eds.) *Handbook series in zoonoses.* Boca Raton: CRC Press. 1980. 22p.

LA TUBERCULOSIS bovina en la Republica Argentina. Comisión Nacional de Zoonosis (CNZ). Buenos Aires, 1982. p. 39-62.

LEPPER, A.W.D.; CORNER, L.A. Naturally occurring mycobacterioses of animals. In: RATLEDGE, C.; STANFORD, J. *The biology of the Mycobacteria.* London: Academic Press., 1983. v.2, p. 417-521.

LITTLE, T.W.A.; SWAN, C.; THOMPSON, H.V. Bovine tuberculosis in domestic and wild mammals in an area of Dorset. The badger population, its ecology and tuberculosis status. *J. Hyg.*, v. 89, n. 2, p. 211-224, 1982.

LÔBO, J.R. *Análise custo-benefício da certificação de propriedades livres de tuberculose bovina. 2008.* 84 f. Dissertação (Mestrado em Agronegócios) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.

MANUAL de Animales Terrestres Local: Organización Internacional de Saúde Animal (OIE), 2008. Cap. 2.3.3, p. 489-502.

MANUAL de Bacteriologia da Tuberculose. Ministério da Saúde. 2. ed., 1994. 115p.

MANUAL¹ de Bacteriologia da Tuberculose. Ministério da Saúde. 3. ed. Rio de Janeiro: Fundação Nacional de Saúde, 2005. 239p.

- MANUAL² of standards for diagnostic tests and vaccines. 5. ed. Paris: Office International des Epizooties/World Organization for Animal Health. Cap.: 2.3.3: *Bovine Tuberculosis*. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00054.htm>. Acesso em: 22/05/2005.
- MANUAL técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose – PNCEBT. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília: MAPA/DAS/DAS, 2006. 184p.
- MARANGON, S.; MATINI, M.; POZZA, M.D. *et al.* A case-control study on bovine tuberculosis in the Veneto Region (Italy). *Prev. Vet. Med.*, v. 34, n. 2, p.87-95, 1998.
- MILTGEN, J.; MORRILLON, M.; KOECK, J.L. *et al.* Two cases of pulmonary tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *canetti*. *Emerg. Infec.*, v. 8, n. 11, p. 1350-1352. 2002.
- MIRANDA, K.L.; STYNEN, A.P.R.; LAGE, A.P. Importância zoonótica da tuberculose bovina. *Cad. Téc. Vet. Zoot.*, n. 59, p. 91-100, 2008.
- MODA, G.; DABORN, C.J.; GRANGE, J.M. *et al.* The zoonotic importance of *Mycobacterium bovis*. *Tuber. Lung. Dis.*, v. 77, n. 2, p. 103-108, 1996.
- MORRIS, R.S.; PFEIFFER, D.U.; JACKSON, R. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection. *Vet. Microbiol.*, v. 40, n. 1, p. 153-177, 1994.
- MOTA, P.M.P.C.; ALENCAR, A.P.; ASSIS, R.A. *et al.* Diagnóstico alérgico da tuberculose bovina. *Cad. Téc. Vet. Zoot.*, n. 59, p. 13-25, 2008.
- MOTA, P.M.P.C.; NAKAJIMA, M. Tuberculose bovina. In: CHARLES, T.P.; FURLONG, J. (Eds.). *Doenças dos bovinos de leite adultos*. Coronel Pacheco: EMPRAPA/CNPGL, 1992. p. 97-122.
- NASSAR, A.F.C.; MIYASHIRO, S; OLIVEIRA, C.G. *et al.* Isolation and identification of bovine tuberculosis in a Brazilian herd (São Paulo). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 102, n. 5, p. 639-642, 2007.
- NEILL, S.D.; POLLOCK, J.M.; BRYSON, D.B. *et al.* Pathogenesis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Vet. Microbiol.*, v.40, n. 1, p.41-52, 1994.
- O'REILLY, L.M.; DABORN, C.J. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man. *Tuber. Lung. Dis.*, v. 76, sup. 1, p.1-46, 1995.
- OBIAGA, J.A.; ROSEMBERG, F.J.; ASTUDILLO, V.M. *et al.* Las características de la producción pecuaria como determinantes de los ecosistemas de fiebre aftosa. *Bol. Cent. Panam. Fiebre Aftosa*, v.1, n. 33, p.33-42, 1979.
- OLIVEIRA V.M.; FONSECA, A.H.; PEREIRA, M.J.S. *et al.* Análise retrospectiva dos fatores associados à distribuição da tuberculose bovina no estado do Rio de Janeiro. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 60, n. 3, p. 574-579, 2008.
- OLIVEIRA, S.J.; PIANTA, C.; RAMOS, E.T. *et al.* Salud publica veterinaria: un estudio sobre tuberculosis en ganado lechero. *Bol. Oficina Sanit. Panam.*, v. 94, n. 2, p. 142-149, 1983.
- OMER, M.K.; SKJERVE, E.; WOLDCHIWET, Z. *et al.* A cross-sectional study of bovine tuberculosis in dairy farms in Asmara, Eritrea. *Trop. Anim. Health Prod.*, v.33, n. 4, p. 295-303, 2001.
- PAIXÃO, T.A.; BARBOSA, S.M.; CARVALHO NETA, A.V. *et al.* O diagnóstico post mortem da tuberculose bovina. *Cad. Téc. Vet. Zootec.*, n. 59, p. 26-42, 2008.
- PALMER, M.V.; WHIPPLE, D.L.; RHYAN, J.C. *et al.* Granuloma development in cattle after intratonsillar inoculation with *Mycobacterium bovis*. *Am. J. Vet. Res.*, v. 60, n. 3, p. 310-315, 1999.

- PEREZ, A.M.; WARD, M.P.; TORRES, P. *et al.* Use of spatial statistics and monitoring data to identify clustering of bovine tuberculosis in Argentina. *Prev. Vet. Med.*, v.56, n. 1, p.63-74, 2002.
- PFEIFFER, D.U. Communicating risk and uncertainty in relation to development an implementation of diseases control policies. *Vet. Microbiol.*, v. 112, n. 2, p. 259-264, 2006.
- PHILLIPS, C.J.C.; FOSTER, C.R.W.; MORRIS, P.A. *et al.* The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle. *Res. Vet. Sci.*, v. 74, n. 1, p. 1-15, 2003.
- PINTO, P.S.A.; FARIA, J.E.; VILORIA, M.I.V. *et al.* Exame microbiológico da tuberculose como subsídio à inspeção post-mortem de bovinos. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.* v. 3, n.1, p.10-15, 2002.
- POLETO, R.; KREUTZ, L.C.; GONZALES, J.C. *et al.* Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS, Brasil. *Ciênc. rural.*, v. 34, n. 2, p. 595-598, 2004.
- PRITCHARD, D.G. A century of bovine tuberculosis 1888-1988: conquest and controversy. *J. Comp. Pathol.*, v. 99, n.4, p. 357-99, 1988.
- RADOSTITS, O.M.; GAY C.C.; BLOOD D.C. *et al.* *Clínica Veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos.* 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.
- RICHARDS, W.D.; WRIGHT, H.S. Preservation of tissue specimens during transport to mycobacteriology laboratories. *J. Clin. Microbiol.*, v. 17, n. 3, p. 393-395, 1983.
- ROGERS, R.J.; DONALD, B.A.; SCHULTZ, K. The distribution of *Mycobacterium bovis* in Queensland cattle herds with observations on the laboratory diagnosis of tuberculosis. *Aust. Vet. J.*, v. 56, n. 11, p. 542-546, 1980.
- ROSEMBERGER, G. *Enfermedades de los bovinos.* Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur, 1983. v.2. p. 51-139.
- ROXO, E. *Avaliação da resposta imunoalérgica cutânea à tuberculina em bubalinos (Bubalus bubalis).* 1996. 63f. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ROXO, E. *Mycobacterium bovis* como causa de zoonose. *Rev. Ciênc. Farm.*, v. 18, n. 1, p. 101-108, 1997.
- ROXO, E.; DIAS, B.C.; PORTUGAL; M.A.S.C. Tuberculose genital em bovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 17., 1993, Santos. *Anais...* São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1993. 170p.
- RUSSELL, A.D.; YARNYCH, V.S.; KOULIKOVSKII, A.V. (Eds.) *Guidelines on disinfection in animal husbandry for prevention and control of zoonotic diseases.* Geneva: World Health Organization, 1984, 61p.
- SAKAMOTO, S.M.; ASSIS, R.A.; ALENCAR, A.P. *et al.* Métodos auxiliares de diagnóstico de tuberculose bovina. *Cad. Téc. Vet. Zootec.*, n. 59, p. 43-68, 2008.
- SALAZAR, F.H.P. *Ocorrência de tuberculose causada por Mycobacterium bovis em bovinos abatidos em frigoríficos no Estado de Mato Grosso, Brasil.* 2005. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campo Grande.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal.* 3. ed. Belo Horizonte: FEP-MVZ, 2007. 264p.

SCHWARZ, P.; SILVA, L.E.; MARCHETTI, A.N. *et al.* Ocorrência de surto de tuberculose causada pelo complexo *Mycobacterium tuberculosis* em uma criação de suínos. *Acta Sci. Vet.*, v. 30, n. 3, p.197-200, 2002.

SMITH, B.P. *Medicina interna de grandes animais*. 3. ed. São Paulo: Manole. 2006. 1728 p.

SNIDER, D.E.; RAVIGLIONE, M.; KOCHI, A. Global Burden of Tuberculosis. In: BLOOM, B.R. (Ed.) *Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control*. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1994. p. 3-11.

SOUSA, R.D.; REIS, D.O.; GUIMARÃES, K.C.S. *et al.* Linfonodos com maior frequência de localização para tuberculose bovina, em animais abatidos em um frigorífico sob inspeção federal, no município de Uberlândia – MG. *Hig. Aliment.*, v. 17, n. 106, p. 35-39, 2003.

THOEN, C.O.; HIMES, E.M. Pathogenesis of *Mycobacterium bovis* infection. *Prog. Vet. Microbiol. Immun.*, v. 2, n. 2, p. 198-214, 1986.

THOEN, C.O.; KARLSON, A.G.; HIMES, E.M. *Mycobacterium tuberculosis* complex. In: KUBICA, G.P.; WAYNE, L.G. *The Mycobacteria: a sourcebook*. New York: Marcel Dekker, 1984. Part B. p. 35-1209.

THOEN, C.O.; STEELE, J.H. *Mycobacterium bovis* infection in animals and human. Ames: Iowa State University Press, 1995. 355p.

THOEN, C.O.; STELLE, J.H.; GILSDORF, M.J. *Mycobacterium bovis – infeccion in animals and humans*. 2. ed. Ames: Iowa State University Press, 2006. 329 p.

WEDLOCK, D.N.; SKINNER M.A.; LISLE, G.W. *et al.* Control of *Mycobacterium bovis* infections and the risk to human populations. *Microb. Infect.*, v.4, n.4, p. 471-480, 2002.

WHIPPLE, D. L.; BOLIN, C. A.; MILLER, J. M. Distribution of lesions in cattle infected with *Mycobacterium bovis*. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 8, n. 3, p. 351-354, 1996.

WILESMITH, J.W.; LITTLE, T.W.A.; THOMPSON, H.V. *et al.* Bovine tuberculosis in domestic and wild mammals in an area of Dorset. I. Tuberculosis in cattle. *J. Hyg.*, v. 89, n. 2, p. 195-210, 1982.

ZANINI, M.S.; MOREIRA, E.C.; LOPES, M.T.P. *et al.* *Mycobacterium bovis*: polymerase chain reaction identification in bovine lymphonode biopses and genotyping in isolates from Southeast Brazil by spoligotyping and restriction fragment length polymorphism. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 96, n. 6, p.1-5, 2001.

ANEXO A - MODELO FORMULÁRIO

Encaminhamento de amostras para
diagnóstico de tuberculose

ESPAÇO RESERVADO PARA O LABORATÓRIO

Condição na recepção: () Congelada () Resfriada Data do recebimento: __/__/__
() Satisfatória () Insatisfatória Recebido por: _____

I - DADOS DO REMETENTE

1. Local: _____
2. Registro: _____ (este campo destina-se a peças originárias de matadouros sob Inspeção Federal, Estadual ou Municipal)

3. Endereço:

Rua, Av.: _____ nº _____
Complemento: _____ Bairro: _____
Município: _____ UF: _____ CEP: _____
Telefone: _____ Fax: _____
E-mail: _____

II - DADOS DA AMOSTRA

1. Origem do animal (propriedade, proprietário, localização, Município, Estado): _____

2. Espécie animal: _____ Sexo: _____

3. Raça: _____ Idade: _____

4. Animal tuberculinizado: () Sim Data: __/__/__ Resultado*: ($\Delta B - \Delta A$): ____ mm
() Não Interpretação: _____
() Não se sabe Obs: ΔB : ____ mm ΔA : ____ mm

5. O animal foi: () Sacrificado Data: __/__/__

() Encontrado morto Data: __/__/__

() Abatido (matadouro) Data: __/__/__

6. Outras mortes ou casos na propriedade: () Sim Mesma espécie animal? _____
() Não

7. Histórico: _____

8. Destino da carcaça: () condenação total () condenação parcial
() destruição na propriedade

9. Peça(s) anatômica(s) enviada(s) ao laboratório: _____

10. Nº Lacre: _____

11. Responsável pela colheita: _____ CRMV: _____

12. Data da colheita: __/__/__

13. Encaminhamento ao laboratório: () Congelada () Resfriada

MAPA/Manual do PNCEBT /2005

ΔB : diferença em mm após 72 horas da inoculação da PPD bovina

ΔA : diferença em mm após 72 horas da inoculação da PPD aviária