



SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA - DEPARTAMENTO DE SAÚDE ANIMAL



Programa Nacional de
Controle e Erradicação
da Brucelose e da
Tuberculose Animal - PNCEBT



**PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE E
ERRADICAÇÃO DA BRUCELOSE E DA
TUBERCULOSE ANIMAL (PNCEBT)**



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE E ERRADICAÇÃO
DA BRUCELOSE E DA TUBERCULOSE ANIMAL (PNCEBT)**

Manual Técnico

Brasília - 2006

Catálogo na Fonte
Biblioteca Nacional de Agricultura - BINAGRI

É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) / organizadores, Vera Cecília Ferreira de Figueiredo, José Ricardo Lôbo, Vitor Salvador Picão Gonçalves. - Brasília : MAPA/SDA/DSA, 2006.

188 p.

ISBN 85-99851-01-2

1. Doença animal - Brucelose - Controle 2. Doença Animal - Tuberculose - Controle I. Lage, Andrey Pereira. II. Roxo, Eliana. III. Muller, Ernst Eckehardt. IV. Poester, Fernando Padilla. V. Cavalléro, João Crisostomo Mauad. VI. Ferreira Neto, José Soares. VII. Mota, Pedro Moacyr Pinto Coelho. VIII. Gonçalves, Vitor Salvador Picão. IX. Secretaria de Defesa Agropecuária. X. Departamento de Saúde Animal. XI. Título.

AGRI 4110; L73
CDU 639.1.091

Apresentação

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ao instituir o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT), reconheceu essas doenças como destacados problemas de saúde animal e de saúde pública no Brasil. São zoonoses causadoras de consideráveis prejuízos econômicos e sociais, em virtude do impacto que produzem na produtividade dos rebanhos e dos riscos que acarretam à saúde humana.

Um país com um serviço oficial de defesa sanitária animal bem estruturado deve ser capaz de atuar com eficácia no controle e na erradicação dessas doenças. Sendo detentor do maior rebanho comercial de bovinos do mundo, o Brasil precisa colocar no mercado produtos de origem animal de qualidade e baixo risco sanitário para consumidores internos e externos cada vez mais exigentes.

Após ampla discussão com os vários segmentos envolvidos, o grupo de trabalho responsável pela elaboração do PNCEBT concebeu um programa com estratégias e objetivos muito claros, calcado em padrões internacionais e que envolve, na sua execução, instituições de ensino e pesquisa em medicina veterinária e grande número de médicos veterinários que atuam no setor privado. Com isso, o serviço oficial de defesa sanitária animal pode concentrar suas ações no estabelecimento das políticas públicas de saúde animal e nas atividades de fiscalização e de certificação.

Nada obstante isso, é de essencial importância a participação dos pecuaristas e da agroindústria, beneficiários primeiros da maior eficiência produtiva dos rebanhos e da certificação de propriedades livres e monitoradas para brucelose e tuberculose, pois terão a possibilidade de ofertar produtos com diferencial de qualidade e maior valor agregado.



Prefácio

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) iniciou, no ano 2000, o processo de elaboração de uma proposta de programa para o controle da brucelose e da tuberculose animal. O assunto era tema de discussão recorrente em eventos técnicos e científicos, em fóruns especializados, em teses de pós-graduação, ou, simplesmente, nas conversas entre veterinários e produtores pecuários. Ações de saneamento de rebanhos, ou mesmo programas locais implementados por cooperativas, eram conhecidos. As autoridades sanitárias do Rio Grande do Sul, na década de 60, e de Minas Gerais, três décadas mais tarde, haviam iniciado programas sistemáticos de vacinação contra a brucelose bovina. O próprio MAPA publicou legislação de controle da brucelose em 1976, porém sem que isso fosse seguido de implementação de um programa específico.

Apesar de todos os esforços, as ações que visavam combater estas enfermidades careciam de padronização, de princípios metodológicos claramente definidos com abordagem populacional, e, sobretudo, não constituíam um esforço organizado e estruturado que configurasse um programa sanitário. Assim, tornava-se necessário repensar a estratégia de combate a estas zoonoses para construir as bases de um programa sanitário adequado à situação epidemiológica, às características do setor pecuário brasileiro e à infra-estrutura de serviços veterinários disponível.

Para elaborar a proposta de programa, o MAPA instituiu um grupo de trabalho multidisciplinar, cuja missão durou seis meses. Durante esse período, foram realizadas reuniões com representantes do serviço de defesa sanitária, dos produtores, do setor agroindustrial, das associações de classe e, ainda, com pesquisadores e acadêmicos. Chegou-se, por fim, a uma proposta baseada em algumas idéias-chave, que abriam caminho para uma nova abordagem do problema.

Em primeiro lugar, ficou claro que não seria possível, nem desejável, começar as ações de controle com medidas características de fases avançadas de erradicação. O exemplo principal desse equívoco era a tendência de exigir a realização de testes diagnósticos em todas as situações de trânsito de animais, inclusive para a participação em qualquer tipo de evento ou aglomeração. Tal exigência levaria a realizar vários milhões de testes de brucelose e tuberculose todos os anos, sem controle de qualidade e sem resultar em saneamento dos focos existentes.

O combate a doenças crônicas de tipo endêmico não pode depender apenas da prevenção da disseminação do agente infeccioso, uma vez que este pode manter-se em equilíbrio, e por muito tempo, em rebanhos infectados. Ou seja, ou se eliminam as fontes de infecção, fazendo o saneamento dos focos, ou a incidência de enfermidade permanecerá inalterada. É necessário ressaltar que os animais reagentes aos testes diagnósticos devem ser eliminados, o que requer algum controle dos médicos veterinários privados e oficiais sobre o destino dos animais.

Para atingir o objetivo de eliminação progressiva de focos, optou-se por um programa voluntário de certificação de rebanhos livres, garantindo-se a isonomia deste conceito. A adesão dos produtores ao programa dependerá dos estímulos e restrições aos quais forem expostos. Se os programas de qualidade do leite e da carne forem incorporando o controle da brucelose e da tuberculose, exigindo que os produtos sejam procedentes de propriedades livres, a preocupação com a saúde animal e a saúde pública será entendida como parte do processo de produção, mais do que como uma imposição do serviço de defesa sanitária, aplicando o princípio da segurança dos alimentos do campo à mesa. A defesa sanitária estará fazendo apenas uma parte do combate a essas zoonoses, assumindo a tarefa de certificação sanitária junto ao produtor. O envolvimento de toda a cadeia produtiva, e do consumidor, é que vai determinar a eficácia de implementação do programa de certificação de propriedades livres.

Para envolver as grandes propriedades de produção de carne existentes no Brasil, elaboraram-se medidas adaptadas às condições de manejo e ao tamanho desses rebanhos, as quais justificam a criação do programa de propriedades monitoradas. Esses rebanhos estarão sujeitos a um sistema de monitoramento permanente que visa prevenir a introdução do agente infeccioso e garantir baixos níveis de risco de manutenção de situações endêmicas.

A vacinação de bezerras contra a brucelose foi considerada prioritária em razão de a prevalência ser alta em quase todo o país. Com essa medida espera-se reduzir significativamente a prevalência e a incidência da brucelose em um prazo de 10 anos. Os exemplos de sucesso em Minas Gerais e no Rio Grande do Sul são motivo para acreditar no acerto dessa estratégia. O PNCEBT é também um programa aberto a inovações, como a introdução de novas vacinas ou testes de diagnóstico. Essa característica é importante para garantir que os produtores e os médicos veterinários tenham acesso constante a métodos de boa eficácia e de custo baixo.

Finalmente, o PNCEBT envolve os médicos veterinários, as universidades e centros de pesquisa como parte ativa de todo o processo. Esta é uma solução nova no Brasil, baseada na idéia de que a grande capacidade técnica instalada das instituições de ensino e pesquisa e a disponibilidade de serviços veterinários existentes no País podem e devem dar uma contribuição importante a todas as fases de um programa de saúde animal.

Acreditamos que as estratégias e normas seguidas pelo PNCEBT são adequadas e podem transformar o combate à brucelose e à tuberculose em um esforço organizado de todos os setores ligados à produção pecuária e à promoção da saúde pública. A partir de agora será necessário monitorar o andamento e o impacto das medidas propostas. Só o tempo mostrará os erros e os acertos e tornará mais evidentes as necessidades de corrigir ou de reforçar o rumo seguido.

Comitê Científico Consultivo do PNCEBT



Sumário

PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE E ERRADICAÇÃO DA BRUCELOSE E DA TUBERCULOSE ANIMAL (PNCEBT)	15
Apresentação do Programa	15
Breve Diagnóstico da Situação Atual	15
Objetivos Específicos do Programa	17
Estratégias	17
Propostas Técnicas	18
Vacinação contra Brucelose	18
Certificação de Propriedades Livres de Brucelose e Tuberculose	19
Certificação de Propriedades Monitoradas para Brucelose e Tuberculose	20
Controle do Trânsito de Animais	21
Habilitação e Capacitação de Médicos Veterinários	21
Diagnóstico e Apoio Laboratorial	22
Brucelose	22
Tuberculose	23
Participação do Serviço Veterinário Oficial	24
BRUCELOSE BOVINA (<i>Brucella abortus</i>)	25
Definição	25
Etiologia	25
Epidemiologia	26
Situação no Brasil	26
Perdas Econômicas	27
Resistência	28
Mecanismos de Transmissão	29
Patogenia	31
Sinais Clínicos e Lesões	32
Resposta Imune contra a Brucelose na Infecção e na Vacinação	33
Diagnóstico	36
Métodos Diretos	36
Métodos Indiretos ou Sorológicos	36

Testes de Triagem	38
Teste de Soroaglutinação com Antígeno Acidificado Tamponado (AAT)	38
Teste do Anel em Leite (TAL)	39
Testes Confirmatórios	39
Teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME)	39
Teste de Soroaglutinação em Tubos (SAT)	40
Fixação de Complemento (FC)	40
Novos Métodos de Diagnóstico	41
Teste de Elisa Indireto (I-Elisa)	41
Teste de Elisa Competitivo (C-Elisa)	41
Teste de Polarização de Fluorescência (FPA)	42
Controle da Brucelose	42
Vacinas contra Brucelose	43
Vacina B19	44
Vacina não Indutora de Anticorpos Aglutinantes	45
Doença no Ser Humano	45
Bibliografia	47
TUBERCULOSE BOVINA (<i>Mycobacterium bovis</i>)	51
Definição	51
Etiologia	51
Epidemiologia	52
Distribuição	52
Importância Econômica	53
Mecanismos de Transmissão	53
Patogenia	55
Diagnóstico	57
Diagnóstico Clínico	58
Diagnóstico Anatomopatológico	58
Diagnóstico Bacteriológico	59
Diagnóstico Alérgico-cutâneo	60
Tuberculinas	61
Mecanismos da Reação Alérgica à Tuberculina	61

Equipamentos para os Testes de Tuberculinização	63
Métodos de Turberculinização	64
Cuidados na Tuberculinização de Rebanhos	64
Novos Métodos de Diagnóstico da Tuberculose Bovina	65
Controle da Tuberculose	66
Tuberculose Humana de Origem Bovina	68
Bibliografia	68

PROPRIEDADES DOS TESTES DE DIAGNÓSTICO E IMPLICAÇÕES NO DELINEAMENTO DE ESTRATÉGIAS SANITÁRIAS

O Caso dos Programas de Controle da Brucelose e da Tuberculose	73
Conclusão	79
Bibliografia	79

COLHEITA DE MATERIAL PARA EXAME LABORATORIAL

Exame Direto (bacteriológico)	81
Tuberculose	82
Brucelose	83
Exame Histopatológico	84
Exame Indireto (sorológico)	84
Identificação e Encaminhamento do Material de Necropsia	87
Preenchimento do Formulário de Encaminhamento de Amostra para Diagnóstico	88

PROTOCOLO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

Diagnóstico Sorológico	91
Antígenos	91
Identificação dos Animais	91
Testes	91
Teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT)	91
Teste do Anel em Leite (TAL)	93
Teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME)	96

PROTOCOLO PARA DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE	103
Diagnóstico Alérgico	103
Tuberculinas	103
Equipamentos	103
Identificação dos Animais	103
Testes	104
Teste Cervical Simples (TCS)	104
Teste Cervical Comparativo (TCC)	106
Teste da Prega Caudal (TPC)	109
ELIMINAÇÃO DE ANIMAIS	111
MÉTODOS DE DESINFECÇÃO	113
Bibliografia	115
PERGUNTAS E RESPOSTAS SOBRE NORMAS E PROCEDIMENTOS	117
Vacina contra Brucelose	117
Cadastramento de Médicos Veterinários	119
Habilitação de Médicos Veterinários	120
Antígenos para Brucelose e Turbeculinas	121
Diagnóstico de Brucelose	122
Diagnóstico de Tuberculose	125
Destino dos Animais Reagentes Positivos	128
Trânsito Interestadual e Aglomerações de Bovinos e Bubalinos (Feiras e Exposições)	129
Certificação de Estabelecimento de Criação Livre de Brucelose e Tuberculose	130
Certificação de Estabelecimento de Criação Monitorado para Brucelose e Tuberculose	134
LEGISLAÇÃO PNCEBT	141
ENDEREÇOS DAS SUPERINTENDÊNCIAS FEDERAIS DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – SFAs/MAPA	181

PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE E ERRADICAÇÃO DA BRUCELOSE E DA TUBERCULOSE ANIMAL (PNCEBT)

Apresentação do Programa

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) foi instituído em 2001 pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) com o objetivo de diminuir o impacto negativo dessas zoonoses na saúde humana e animal, além de promover a competitividade da pecuária nacional. O PNCEBT introduziu a vacinação obrigatória contra a brucelose bovina e bubalina em todo o território nacional e definiu uma estratégia de certificação de propriedades livres ou monitoradas.

Breve Diagnóstico da Situação Atual

A brucelose, causada por *Brucella abortus*, e a tuberculose, ocasionada por *Mycobacterium bovis*, estão disseminadas por todo o território nacional; a sua prevalência e distribuição regional, porém, não estão bem caracterizadas. Sabe-se que a brucelose atinge tanto o gado de corte como o gado de leite, enquanto a tuberculose é um problema mais sério para os produtores de leite. Ambas as enfermidades afetam a população de bubalinos.

O último diagnóstico de situação da brucelose bovina em nível nacional foi realizado em 1975, tendo sido estimada a porcentagem de animais soropositivos em 4% na Região Sul, 7,5% na Região Sudeste, 6,8% na Região Centro-Oeste, 2,5% na Região Nordeste e 4,1% na Região Norte. Posteriormente, outros levantamentos sorológicos por amostragem, realizados em alguns

Estados, revelaram pequenas alterações na prevalência de brucelose: no Rio Grande do Sul, a prevalência passou de 2,0% em 1975, para 0,3% em 1986, após uma campanha de vacinação bem sucedida; em Santa Catarina, passou de 0,2% em 1975, para 0,6% em 1996; no Mato Grosso do Sul, a prevalência estimada em 1998 foi de 6,3%, idêntica ao valor encontrado em 1975 para o território mato-grossense; em Minas Gerais, passou de 7,6% em 1975, para 6,7% em 1980; no Paraná, a prevalência estimada em 1975 foi de 9,6%, passando para 4,6% de bovinos soropositivos em 1989. Os dados de notificações oficiais indicam que a prevalência de animais soropositivos se manteve entre 4% e 5% no período de 1988 a 1998.

Entre 1989 e 1998, os dados de notificações oficiais de tuberculose bovina indicam uma prevalência média nacional de 1,3% de animais infectados.

Um levantamento realizado em 1999, no Triângulo Mineiro e nas regiões do centro e sul de Minas Gerais, envolvendo aproximadamente 1.600 propriedades e 23.000 animais, estimou a prevalência aparente de animais infectados em 0,8%. No mesmo estudo, foram detectadas 5% de propriedades com animais reagentes, sendo importante destacar que esse valor subiu a 15% no universo de propriedades produtoras de leite com algum grau de mecanização da ordenha e de tecnificação da produção.

A partir da instituição do Programa em 2001, um inquérito soropidemiológico para a brucelose está sendo realizado em nível nacional, com critérios padronizados e encontra-se em fase adiantada. Os critérios para a realização de estudo de prevalência da tuberculose no País estão sendo estabelecidos.

Antes do lançamento do PNCEBT, o controle da brucelose estava regulamentado pela Portaria Ministerial nº 23/76, que não vinha obtendo a eficácia desejada. O mesmo aplica-se ao problema da tuberculose, cujas normas e procedimentos de controle só com este Programa passaram a estar regulamentados em nível nacional.

É importante destacar a iniciativa da Associação Brasileira de Buiatria que, em 1999, organizou grupos de discussão sobre o

controle da tuberculose bovina no Brasil e culminou no encaminhamento de uma proposta de ação ao MAPA em dezembro desse mesmo ano.

Quanto à brucelose e à tuberculose dos suínos, o controle é feito de acordo com as normas de certificação de granjas de reprodutores suídeos da Secretaria de Defesa Agropecuária/MAPA, que estabelecem procedimentos de diagnóstico e controle na população de matrizes.

A brucelose ovina e caprina de importância epidemiológica, causada por *Bruceella melitensis*, não foi diagnosticada no Brasil até o presente momento. A epididimite ovina, provocada por *Bruceella ovis*, não é considerada nas medidas propostas neste Programa, pois trata-se de doença com características próprias, pelo que será considerada no âmbito de programas de controle de doenças dos ovinos. Não existem dados sobre tuberculose ovina e caprina no Brasil que justifiquem a implantação de medidas específicas visando o controle sistemático da doença em pequenos ruminantes.

Objetivos Específicos do Programa

- Reduzir a prevalência e a incidência de novos focos de brucelose e de tuberculose.
- Criar um número significativo de propriedades certificadas como livres de brucelose e tuberculose ou monitoradas para brucelose e tuberculose, e que ofereçam ao consumidor produtos de baixo risco sanitário.

Estratégias

A estratégia deste programa consiste em um conjunto de medidas sanitárias compulsórias, associadas a ações de adesão voluntária.

As medidas compulsórias têm eficácia comprovada e permitem obter uma importante redução da prevalência e da

incidência das duas doenças a custos reduzidos. Trata-se da vacinação de bezerras contra a brucelose e do controle do trânsito de animais destinados à reprodução. É importante ressaltar que a prioridade neste Programa é a vacinação contra a brucelose.

As ações de adesão voluntária dizem respeito à certificação de propriedades livres e de propriedades monitoradas, que nada mais são do que um instrumento que os produtores e o setor agroindustrial utilizarão para agregar valor aos seus produtos.

Assim sendo, este não é um programa apenas do governo federal e dos governos estaduais; é um projeto que deverá envolver o setor produtivo e suas comunidades, o setor industrial e os consumidores, não esquecendo os médicos veterinários que atuam no setor privado. Em outras palavras, o setor público deverá atuar como agente certificador dentro de um processo que envolve diretamente toda a cadeia produtiva.

Para garantir a qualidade técnica das ações do Programa, foi elaborada uma série de medidas que visam:

- capacitar médicos veterinários e laboratórios, tanto oficiais como privados;
- padronizar os métodos de diagnóstico utilizados;
- permitir as ações de fiscalização e monitoramento que cabem ao serviço oficial de defesa sanitária animal;
- melhorar a integração desse serviço de defesa sanitária com o serviço oficial de inspeção de produtos de origem animal.

Propostas Técnicas

Vacinação contra Brucelose

Estabeleceu-se um prazo – até dezembro de 2003 – para cada Estado implantar em todo o seu território a obrigatoriedade de vacinação de bezerras contra a brucelose. A vacinação só poderá ser realizada sob a responsabilidade de médicos veterinários; estes deverão estar cadastrados no serviço oficial de defesa sanitária animal de seu Estado de atuação. Em regiões onde houver carência de veteriná-

rios privados, ou nos casos em que eles não atendam plenamente às necessidades do Programa, o serviço oficial de defesa sanitária animal poderá executar ou supervisionar as atividades de vacinação. Espera-se que, até dezembro de 2010, ao menos 80% da população de fêmeas adultas tenham sido vacinadas entre 3 e 8 meses de idade. Quando essa meta for atingida, a prevalência de brucelose deverá situar-se em níveis que permitam passar à fase de erradicação.

O PNCEBT também autoriza a vacinação de fêmeas com idade superior a oito meses, desde que sejam utilizadas vacinas que não interfiram com os testes de diagnóstico e atendam aos critérios estabelecidos em norma específica.

Certificação de Propriedades Livres de Brucelose e Tuberculose

Os procedimentos de certificação de propriedades livres de brucelose e de tuberculose obedecem aos princípios técnicos estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) e, portanto, acreditados e aceitos internacionalmente. A sua aplicação foi ajustada à realidade dos sistemas de produção brasileiros e às necessidades do PNCEBT. A adesão ao processo de certificação é voluntária e seria extremamente positiva a implementação de mecanismos de incentivo e de compensação. Tais iniciativas deverão ser desenvolvidas em colaboração com todos os atores da cadeia produtiva, principalmente a indústria.

O saneamento das propriedades que entram em processo de certificação deve ser realizado testando todos os animais e sacrificando os reagentes positivos. Os testes em todo o rebanho serão repetidos até a obtenção de três testes sem um único animal reagente positivo, ao longo de um período mínimo de nove meses. Uma vez terminado o saneamento, a propriedade obtém o certificado de livre dessas doenças, cuja manutenção depende do cumprimento de todas as regras e normas sanitárias estabelecidas. As propriedades certificadas ficam obrigadas a repetir os testes anualmente. É importante destacar a exigência de dois testes

negativos para o ingresso de animais na propriedade, se eles não forem provenientes de outra propriedade livre. Os testes de diagnóstico para brucelose são realizados exclusivamente em fêmeas de idade igual ou superior a 24 meses, desde que vacinadas entre 3 e 8 meses; em machos e fêmeas não vacinadas, realizam-se a partir dos 8 meses de idade. Serão submetidos a testes de diagnóstico para tuberculose todos os animais com idade igual ou superior a 6 semanas.

As atividades de saneamento para a certificação de propriedades livres ou monitoradas serão desenvolvidas por médicos veterinários privados habilitados, depois de aprovados em curso de treinamento reconhecido pelo MAPA. O serviço oficial de defesa sanitária animal deverá monitorar e fiscalizar essas atividades.

Certificação de Propriedades Monitoradas para Brucelose e Tuberculose

Existe uma dificuldade de 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. Por esse motivo, criou-se a certificação de propriedade monitorada para brucelose e tuberculose, também de adesão voluntária. Nelas, os testes de diagnóstico são realizados por amostragem, seguindo procedimentos estabelecidos no Regulamento do PNCEBT. Se não forem detectados animais reagentes positivos, a propriedade receberá o certificado de monitorada para brucelose e tuberculose. Se forem encontrados animais reagentes positivos, os animais não incluídos na amostragem serão submetidos a testes de diagnóstico, e todos os animais reagentes positivos serão sacrificados ou destruídos. Somente após essa etapa a propriedade receberá o certificado de monitorada para brucelose e tuberculose.

Em propriedades monitoradas, os testes serão realizados apenas em fêmeas com mais de 24 meses e em machos reprodutores, com periodicidade anual para brucelose e a cada dois anos para tuberculose (após obtidos dois testes anuais de

rebanho para tuberculose, com resultados negativos). Só poderão ingressar na propriedade animais com dois testes negativos ou provenientes de propriedades de condição sanitária igual ou superior. À semelhança das propriedades livres, as propriedades monitoradas são obrigadas a ter supervisão técnica de médico veterinário habilitado.

O certificado de propriedade monitorada para brucelose e tuberculose será atribuído exclusivamente a fazendas de gado de corte. O MAPA entende que esta é uma forma eficaz de diminuir a prevalência de tais enfermidades em propriedades com grande número de animais e de criação extensiva, enquanto garante o reconhecimento oficial de um trabalho sistemático de vigilância e saneamento. Para as indústrias exportadoras de carne, é muito importante poder dar garantias aos mercados consumidores de que o seu produto provém de propriedades de criação onde o controle dessas doenças é feito de forma sistemática, aplicando-se princípios de gestão de risco.

Controle do Trânsito de Animais Destinados à Reprodução, e Normas Sanitárias para a Participação em Exposições, Feiras, Leilões e em outras Aglomerações de Animais

O PNCEBT estabelece exigências de diagnóstico para efeito de trânsito interestadual de animais destinados à reprodução. Animais que participam de exposições também devem ser submetidos a teste de diagnóstico, ou ser provenientes de propriedade livre. A emissão de Guia de Trânsito Animal (GTA) será também condicionada à comprovação da vacinação das fêmeas da propriedade contra a brucelose, qualquer que seja a finalidade do trânsito animal.

Habilitação e Capacitação de Médicos Veterinários

O PNCEBT envolve um grande número de ações sanitárias profiláticas e de diagnóstico a campo. Assim sendo, torna-se necessário habilitar médicos veterinários do setor privado para

atuarem junto ao PNCEBT, sob supervisão do MAPA e das Secretarias de Agricultura dos Estados. A vacinação contra brucelose deverá ser realizada sob responsabilidade de médicos veterinários. Por tratar-se de vacina viva atenuada, sua compra só poderá ser efetuada mediante a apresentação da receita emitida por médico veterinário. Esses profissionais ficarão obrigatoriamente cadastrados no serviço veterinário oficial de seu Estado de atuação.

Para executar as atividades de diagnóstico a campo e participar do programa de certificação de propriedades livres ou monitoradas, o MAPA só habilitará médicos veterinários que tenham sido aprovados em curso de treinamento em métodos de diagnóstico e controle de brucelose e tuberculose, previamente reconhecido por esse Ministério. Esses cursos são ministrados em instituições de ensino ou pesquisa de todo o País com o objetivo de atualizar os conhecimentos dos profissionais que vão atuar no Programa e, sobretudo, de padronizar as ações sanitárias. Os instrutores desses cursos serão habilitados por meio da participação em seminários de referência do Programa Nacional, organizados pelo MAPA e oferecidos regularmente.

A capacitação dos profissionais do setor privado e a sua participação neste Programa Nacional representam um desafio e uma oportunidade para a classe médico-veterinária demonstrar sua capacidade de contribuir para a solução de importantes problemas de saúde pública e de saúde animal, a partir da integração do serviço veterinário oficial com o setor privado e da constante melhoria do padrão de serviços oferecidos aos pecuaristas.

Diagnóstico e Apoio Laboratorial

A eficácia de um programa nacional de combate a qualquer doença depende, em parte, da qualidade e da padronização dos procedimentos de diagnóstico utilizados. Os testes para diagnóstico indireto reconhecidos como oficiais são:

Brucelose

1) o teste do antígeno acidificado tamponado, que é muito sensível e de fácil execução, é o teste de triagem realizado por médicos veterinários habilitados, por laboratórios credenciados ou por laboratórios oficiais credenciados;

2) os animais que reagirem ao teste de triagem poderão ser submetidos a um teste confirmatório, o 2-Mercaptoetanol, que é mais específico, e é executado por laboratórios credenciados ou por laboratórios oficiais credenciados;

3) o teste de fixação de complemento, ou outro que o substitua, é realizado em laboratórios oficiais credenciados para efeito de trânsito internacional, como teste confirmatório em animais reagentes ao teste de triagem, ou para diagnóstico de casos inconclusivos ao teste do 2-Mercaptoetanol;

4) o teste do anel em leite poderá ser utilizado para monitoramento da condição sanitária de propriedades livres ou como ferramenta de diagnóstico em sistemas de vigilância epidemiológica; pode ser executado por médicos veterinários habilitados, por laboratórios credenciados ou por laboratórios oficiais credenciados.

Tuberculose

1) o teste cervical simples é a prova de rotina em gado de leite devido à sua boa sensibilidade;

2) o teste da prega ano-caudal pode ser utilizado como prova de triagem, porém, exclusivamente em gado de corte;

3) o teste cervical comparativo é a prova confirmatória para animais reagentes ao teste da prega ano-caudal ou ao teste cervical simples; todavia, também pode ser empregado como única prova diagnóstica em rebanhos com histórico de reações inespecíficas.

Os testes acima mencionados colocam o diagnóstico de brucelose e de tuberculose no Brasil em sintonia com os padrões internacionais, e, em particular, com as recomendações do *Código*

Zoossanitário Internacional da OIE. Entretanto, o MAPA pretende atualizar os métodos de diagnóstico à medida que novos e melhores testes forem surgindo.

Participação do Serviço Veterinário Oficial

A credibilidade das atividades propostas neste Programa, principalmente a certificação de propriedades, está diretamente associada às ações de monitoramento e fiscalização do serviço veterinário oficial. Uma vez que este não vai executar as ações sanitárias, o seu papel de órgão certificador de qualidade será garantido atuando em pontos críticos do processo. Por exemplo, o serviço oficial poderá, em qualquer momento, realizar diagnósticos por amostragem em propriedades certificadas e fará um acompanhamento direto dos testes finais que conferem o certificado de propriedade livre.

Um ponto fundamental é a integração do serviço de inspeção de produtos de origem animal neste Programa, em virtude do seu papel tanto na proteção ao consumidor como na vigilância epidemiológica. Com tal objetivo, será estabelecido um fluxo sistemático de informações nosológicas entre o serviço de inspeção e o serviço de defesa sanitária animal.

Finalmente, deve ser ressaltada a necessidade de integrar o controle da brucelose e tuberculose nos programas de educação sanitária.

BRUCELOSE BOVINA (*Brucella abortus*)

Definição

A brucelose é uma doença infecto-contagiosa provocada por bactérias do gênero *Brucella*. Produz infecção característica nos animais, podendo infectar o homem. Sendo uma zoonose de distribuição universal, acarreta problemas sanitários importantes e prejuízos econômicos vultosos. As principais manifestações nos animais – como abortos, nascimentos prematuros, esterilidade e baixa produção de leite – contribuem para uma considerável baixa na produção de alimentos. No homem, a sua manifestação clínica é responsável por incapacidade parcial ou total para o trabalho.

Tendo em vista ser o presente manual parte integrante do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) em bovinos e bubalinos, os conceitos emitidos a seguir serão dirigidos a essas duas espécies animais.

Etiologia

Dentro do gênero *Brucella*, são descritas seis espécies independentes, cada uma com seu hospedeiro preferencial: *Brucella abortus* (bovinos e bubalinos), *Brucella melitensis* (caprinos e ovinos), *Brucella suis* (suínos), *Brucella ovis* (ovinos), *Brucella canis* (cães) e *Brucella neotomae* (rato do deserto). Duas novas espécies, recentemente isoladas de mamíferos marinhos estão sendo estudadas.

As três espécies principais, também denominadas clássicas, são subdivididas em biovariedades ou biovars: *B. abortus* – 7 biovars; *B. melitensis* – 3 biovars; *B. suis* – 5 biovars.

As bactérias do gênero *Brucella* são parasitas intracelulares facultativos, com morfologia de cocobacilos Gram-negativos, imóveis; podem apresentar-se em cultivos primários com morfologia colonial lisa ou rugosa (rugosa estrita ou mucóide). Essa morfologia está diretamente associada à composição bioquímica do lipopolissacarídeo da parede celular, e para algumas espécies tem relação com a virulência. *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis* normalmente apresentam uma morfologia de colônia do tipo lisa; quando evoluem para formas rugosas ou mucóides, deixam de ser patogênicas. Já as espécies *B. ovis* e *B. canis* apresentam uma morfologia de colônia permanentemente do tipo rugosa ou mucóide.

Embora os bovinos e bubalinos sejam suscetíveis à *B. suis* e *B. melitensis*, inequivocamente a espécie mais importante é a *B. abortus*, responsável pela grande maioria das infecções.

Epidemiologia

Situação no Brasil

Estudos mostram que a brucelose bovina parece estar disseminada por todo o território brasileiro, com maior ou menor prevalência dependendo da região estudada. Em 1975, foram verificadas as seguintes prevalências em animais, por regiões: Sul, 4%; Sudeste, 7,5%; Centro-Oeste, 6,8%; Nordeste, 2,5% e Norte, 4,1%.

Posteriormente, alguns Estados realizaram estudos sorológicos por amostragem, os quais não evidenciaram grandes alterações em relação aos índices nacionais verificados em 1975.

No Rio Grande do Sul, a prevalência decresceu de 2%, em 1975, para 0,3%, em 1986. Em Santa Catarina, passou de 0,2%, em 1975, para 0,6%, em 1996. No Mato Grosso do Sul, a prevalência estimada em 1998 foi de 6,3%, semelhante à de 1975 no antigo Estado do Mato Grosso. Em Minas Gerais, passou de 7,6%, em 1975, para 6,7%, em 1980. No Paraná, a prevalência estimada em 1975 foi de 9,6%, passando para 4,6% em 1989.

Os dados oficiais, publicados no *Boletim de Defesa Sanitária Animal*, mostram que a prevalência de animais positivos no Brasil manteve-se entre 4% e 5% no período entre 1988 e 1998.

Apesar dos poucos estudos realizados visando à identificação das biovariedades de *Brucella* isoladas de bovídeos no Brasil, já foram identificadas *B. abortus* biovars 1, 2 e 3 e *B. suis* biovar 1. Além dessas espécies, de igual modo já foram identificadas *B. canis* e *B. ovis* infectando animais domésticos. Até o presente momento, a *B. melitensis*, principal agente etiológico da brucelose caprina, não foi identificada no Brasil.

Perdas Econômicas

Nos bovinos e bubalinos, a brucelose acomete, de modo especial, o trato reprodutivo, gerando perdas diretas devido, principalmente, a abortos, baixos índices reprodutivos, aumento do intervalo entre partos, diminuição da produção de leite, morte de bezerros e interrupção de linhagens genéticas. As propriedades onde a doença está presente têm o valor comercial de seus animais depreciado; as regiões onde a doença é endêmica encontram-se em posição desvantajosa na disputa de novos mercados.

Estimativas mostram ser a brucelose responsável pela diminuição de 25% na produção de leite e de carne e pela redução de 15% na produção de bezerros. Mostram ainda que, em cada cinco vacas infectadas, uma aborta ou torna-se permanentemente estéril.

Dentro das perdas indiretas, deve-se salientar as que resultam em infecções humanas. Na maioria das vezes, quando a enfermidade não é tratada na fase aguda, o curso crônico da doença no homem produz perdas econômicas de vulto. Essas perdas estão relacionadas com os custos do diagnóstico e tratamento, muitas vezes requerendo internações prolongadas. Além disso, não deve ser esquecido o custo do período decorrente da ausência ao trabalho.

No Brasil, não existem estudos concretos sobre os prejuízos econômicos ocasionados pela brucelose bovina ou bubalina.

Nos Estados Unidos, estimou-se, em 1983, que as perdas por brucelose bovina foram da ordem de 32 milhões de dólares, apesar do programa americano ter-se iniciado há mais de 40 anos.

Resistência

As bactérias do gênero *Brucella*, apesar de permanecerem no ambiente, não se multiplicam nele; elas são medianamente sensíveis aos fatores ambientais. Entretanto, a resistência diminui quando aumentam a temperatura e a luz solar direta ou diminui a umidade.

A pasteurização é um método eficiente de destruição de *Brucella sp*, assim como as radiações ionizantes.

A sobrevivência de *Brucella sp* em esterco líquido é inversamente proporcional à temperatura dele, pois pode sobreviver nesse material por 8 meses a 15°C, enquanto que só resiste por 4 horas se a temperatura do material for de 45° – 50°C.

O Quadro 1 mostra o tempo de resistência de *Brucella sp* em algumas condições ambientais.

Quadro 1 – Resistência de *Brucella sp* em algumas condições ambientais

Condição ambiental		Tempo de sobrevivência
Luz solar direta		4 – 5 horas
Solo	seco	4 dias
	úmido	65 dias
	a baixas temperaturas	151 – 185 dias
Fezes		120 dias
Dejetos	esgoto	8 – 240/700 dias
	altas temperaturas	4 horas – 2 dias
Água	potável	5 – 114 dias
	poluída	30 – 150 dias
Feto à sombra		180 dias
Exsudato uterino		200 dias

Adaptado de Wray (1975), OMS (1986) e Crawford et al. (1990).

Mecanismos de Transmissão

No animal infectado, as localizações de maior freqüência do agente são: linfonodos, baço, fígado, aparelho reprodutor masculino, útero e úbere. As vias de eliminação são representadas pelos fluidos e anexos fetais – eliminados no parto ou no abortamento e durante todo o puerpério –, leite e sêmen.

A principal fonte de infecção é representada pela vaca prenhe, que elimina grandes quantidades do agente por ocasião do aborto ou parto e em todo o período puerperal (até, aproximadamente, 30 dias após o parto), contaminando pastagens, água, alimentos e fômites. Essas bactérias podem permanecer viáveis no meio ambiente por longos períodos, dependendo das condições de umidade, temperatura e sombreamento, ampliando de forma significativa a chance de o agente entrar em contato e infectar um novo indivíduo suscetível.

A porta de entrada mais importante é o trato digestivo, sendo que a infecção se inicia quando um animal suscetível ingere água e alimentos contaminados ou pelo hábito de lambe as crias recém-nascidas. Uma vaca pode adquirir a doença apenas por cheirar fetos abortados, pois a bactéria também pode entrar pelas mucosas do nariz e dos olhos.

O tempo transcorrido entre a exposição ao agente infeccioso e o aparecimento dos sintomas visíveis é o que se define como período de incubação. No caso da brucelose, esse período pode ser de poucas semanas e até mesmo de meses ou anos. Considerando-se o momento em que ocorre a infecção, o período de incubação é inversamente proporcional ao tempo de gestação, ou seja, quanto mais adiantada a gestação, menor será o período de incubação.

A transmissão pelo coito parece não ser de grande importância entre bovinos e bubalinos. Na monta natural, o sêmen é depositado na vagina, onde há defesas inespecíficas que dificultam o processo de infecção.

Entretanto, um touro infectado não pode ser utilizado como doador de sêmen; isso porque, na inseminação artificial, o sêmen é introduzido diretamente no útero, permitindo infecção da fêmea com pequenas quantidades do agente, sendo por isso importante via de transmissão e eficiente forma de difusão da enfermidade nos plantéis.

A transferência de embriões – realizada segundo os protocolos internacionalmente preconizados de lavagem e tratamento para a redução da transmissão de agentes infecciosos –, não apresenta risco de transmissão de brucelose entre doadoras infectadas e receptoras livres da doença.

Fêmeas nascidas de vacas brucélicas podem infectar-se no útero, durante ou logo após o parto. Quando infectadas, essas fêmeas em geral abortam na primeira prenhez, e só apresentam resultados positivos para os testes sorológicos no decorrer da gestação. Esse fenômeno ocorre em frequência baixa, porém, apesar de não impedir o avanço dos programas de controle e erradicação, invariavelmente acarreta considerável retardo na obtenção de bons resultados deles.

Várias espécies domésticas ou silvestres são suscetíveis à infecção por *B. abortus*, entretanto, são consideradas como hospedeiros finais da infecção, pois não transmitem o agente novamente aos bovinos. Entre aquelas espécies em condições de ter alguma importância na epidemiologia da brucelose bovina, podem ser citados: os eqüídeos, que podem apresentar lesões articulares abertas, principalmente de cernelha; os cães, que podem abortar pela infecção; e os saprófagos, pela possibilidade de levar restos de placenta ou feto de um lugar para outro.

A principal forma de entrada da brucelose em uma propriedade é a introdução de animais infectados. Quanto maior a frequência de introdução de animais, maior o risco de entrada da doença no rebanho. Por essa razão, deve-se evitar introduzir animais cuja condição sanitária é desconhecida. O ideal é que esses animais procedam de rebanhos livres ou, então, que sejam

submetidos à rotina diagnóstica que lhes garanta a condição de não infectados.

Patogenia

A *B. abortus* geralmente entra no organismo do hospedeiro pela mucosa oral ou nasal. Após a penetração na mucosa, as bactérias se multiplicam e são fagocitadas. Em geral, quando ocorre a entrada pela via digestiva, as tonsilas são um dos principais pontos de multiplicação do agente.

Uma das características da infecção por *Brucella* sp é o fato de a bactéria poder resistir aos mecanismos de destruição das células fagocitárias e sobreviver dentro de macrófagos por longos períodos. Essa localização intracelular é um dos mecanismos de evasão do sistema imune, porque protege as brucelas da ação do complemento e de anticorpos específicos.

Após a multiplicação no sítio de entrada, a *B. abortus* é transportada, livre ou dentro de macrófagos, para os linfonodos regionais, nos quais pode permanecer por meses. Se a bactéria não for destruída ou não se tornar localizada, há disseminação para vários órgãos por via linfática ou hematógena. As localizações preferenciais são: linfonodos, baço, fígado, aparelho reprodutor masculino, úbere e útero. Eventualmente, pode instalar-se nas articulações mais exigidas, dando origem a lesões denominadas higromas, que podem supurar. Devido ao seu tropismo por algumas substâncias, como o eritritol, grande parte das brucelas se localiza nos testículos e no útero gestante.

A infecção do útero gestante ocorre por via hematógena. As brucelas multiplicam-se inicialmente no trofoblasto do placentoma, infectando também as células adjacentes, levando a uma reação inflamatória da placenta. Além disso, há infecção do feto, de igual modo por via hematógena.

As lesões placentárias raramente atingem todos os placentomas; em geral, apenas parte deles é afetada. Tais lesões

inflamatório-necróticas de placentomas, que impedem a passagem de nutrientes e oxigênio da mãe para o feto, assim como provocam a infecção maciça do feto por *B. abortus*, são as responsáveis pelo aborto.

Com o desenvolvimento de imunidade celular após o primeiro aborto, há uma diminuição do número e do tamanho das lesões de placentomas nas gestações subseqüentes. Com isso, o aborto torna-se infreqüente, aparecendo outras manifestações da doença, como, por exemplo, a retenção de placenta, a natimortalidade ou o nascimento de bezerros fracos.

Sinais Clínicos e Lesões

A brucelose pode manifestar-se de maneira distinta conforme o hospedeiro. Nos bovinos e bubalinos, a principal manifestação clínica é o aborto, que ocorre em torno do sétimo mês de gestação. Após a infecção, o aborto quase sempre acontece na primeira gestação, mas, em decorrência do desenvolvimento da imunidade celular, é pouco freqüente na segunda gestação após a infecção, e muito raro nas subseqüentes. Os animais infectados apresentam uma placentite necrótica, sendo comum a retenção de placenta. Após o primeiro aborto, são mais freqüentes a presença de natimortos e o nascimento de bezerros fracos.

O feto geralmente é abortado 24 a 72 horas depois de sua morte, sendo comum sua autólise. Não há nenhuma lesão patognomônica da brucelose no feto abortado, mas, com freqüência, observa-se broncopneumonia supurativa.

Nos rebanhos com infecção crônica, os abortos concentram-se nas fêmeas primíparas e nos animais sadios recentemente introduzidos.

Nos machos existe uma fase inflamatória aguda, seguida de cronificação, freqüentemente assintomática. As bactérias podem instalar-se nos testículos, epidídimos e vesículas seminais. Um dos possíveis sinais é a orquite uni ou bilateral, transitória ou permanente,

com aumento ou diminuição do volume dos testículos. Em outros casos, o testículo pode apresentar um aspecto amolecido e cheio de pus. Lesões articulares também podem ser observadas.

Resposta Imune contra a Brucelose na Infecção e na Vacinação

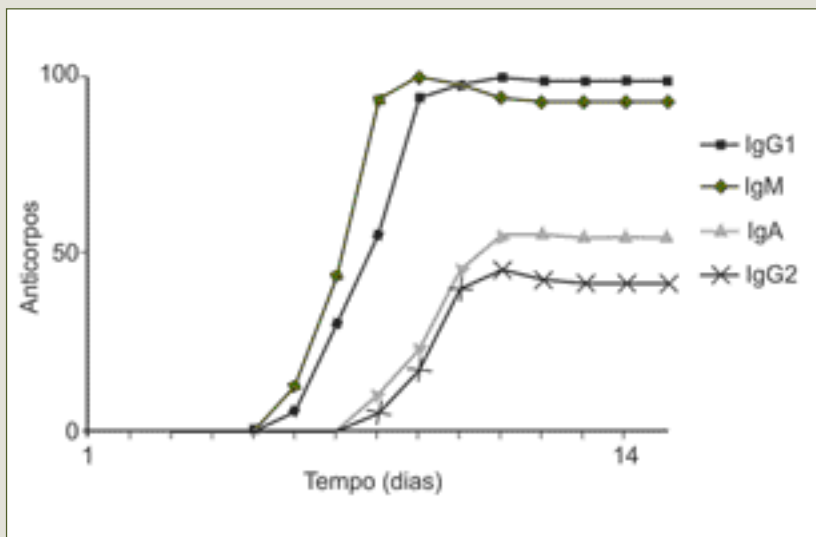
As bactérias do gênero *Brucella* são parasitas intracelulares facultativos, com capacidade de se multiplicar e sobreviver dentro de macrófagos. Em razão dessa habilidade, a proteção contra a infecção e a eliminação da bactéria do organismo hospedeiro dependem primariamente da resposta imune mediada por células. Tal resposta dá-se pela interação de células fagocitárias – neutrófilos e macrófagos – e de células específicas, linfócitos T auxiliares e citotóxicos. Apesar de existirem metodologias para se medir a intensidade dessa resposta imune celular, essas técnicas, por serem complexas e de difícil execução, não são utilizadas na rotina de diagnóstico da infecção por *Brucella* sp.

Além da resposta imune celular, anticorpos específicos (imunidade humoral) contra a cadeia “O” também são produzidos durante a infecção. Os anticorpos dirigidos contra o lipopolissacarídeo (LPS) de *Brucella* sp têm sido bastante estudados, de modo especial por serem detectados com facilidade em provas sorológicas. A maioria das imunoglobulinas presentes no soro de bovinos e bubalinos é da classe G (IgG1 e IgG2), seguidas das classes M (IgM) e A (IgA).

A resposta humoral de bovinos infectados por *B. abortus* ou vacinados com B19, caracteriza-se pela síntese dos quatro isotipos principais de imunoglobulinas. A resposta sorológica pós-infecção ou vacinação produz-se a partir da primeira semana, aparecendo, em primeiro lugar, o isotipo IgM e, logo após, o IgG1. As respostas de IgG2 e IgA aparecem mais tarde, aumentam gradativamente, mas permanecem em níveis baixos (Figura 1). A observação por períodos prolongados da resposta humoral em animais infectados

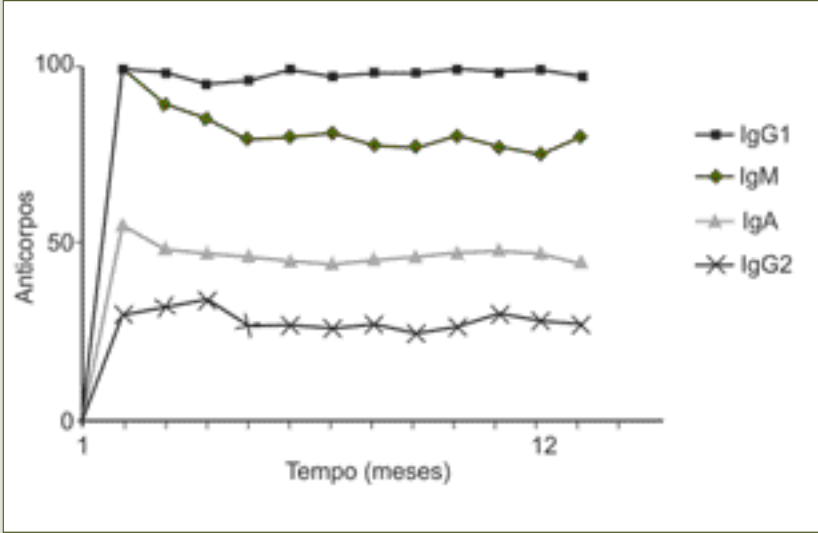
demonstra que há um leve decréscimo dos níveis de IgM, enquanto que os de IgG1 permanecem altos, inalterados. A IgG2 e IgA permanecem em níveis mais baixos e estáveis (Figura 2). A observação por período prolongado em animais vacinados com B19, quando vacinados até 8 meses, demonstra que o nível de anticorpos decresce rapidamente, atingindo títulos inferiores a 25 UI depois de 12 meses (Figura 3). Por outro lado, se a vacinação for realizada acima de 8 meses de idade, os títulos vacinais tendem a permanecer elevados por mais tempo, podendo gerar reações falso-positivas nos testes indiretos de diagnóstico.

Figura 1 – Resposta dos principais isotipos de anticorpos em bovinos infectados com amostra patogênica de *Brucella abortus* ou vacinados com B19



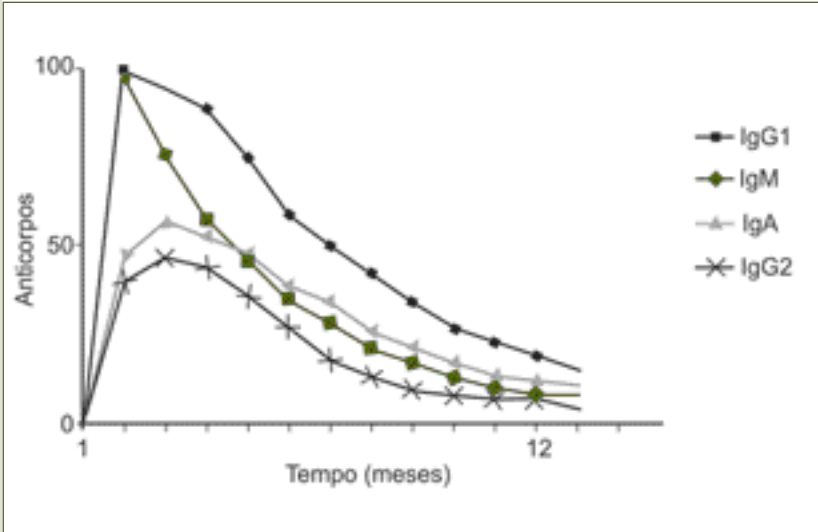
Fonte: Adaptado de Nielsen et al., 1996.

Figura 2 – Resposta a longo termo dos principais isotipos de anticorpos em bovinos infectados com amostra patogênica de *Brucella abortus*



Fonte: Adaptado de Nielsen et al., 1996.

Figura 3 – Resposta a longo termo dos principais isotipos de anticorpos em bovinos vacinados com a amostra B19 de *Brucella abortus*



Fonte: Adaptado de Nielsen et al., 1996.

Diagnóstico

O diagnóstico da brucelose pode ser feito pela identificação do agente por métodos diretos, ou pela detecção de anticorpos contra *B. abortus* por métodos indiretos.

Métodos Diretos

Os métodos diretos incluem o isolamento e a identificação do agente, imunohistoquímica, e métodos de detecção de ácidos nucleicos, principalmente a reação da polimerase em cadeia (PCR).

O isolamento e a identificação da *B. abortus* a partir de material de aborto (feto, conteúdo estomacal de feto, placenta) ou de secreções apresentam resultados muito bons se a colheita e o transporte da amostra forem bem realizados e se a amostra for processada em laboratórios capacitados e com experiência. Entretanto, devido ao risco de contaminação humana durante o processamento da amostra, poucos são os laboratórios que realizam o exame.

A imunohistoquímica pode ser procedida em material de aborto após a fixação em formol e permite tanto a identificação do agente como a visualização de aspectos microscópicos do tecido examinado.

A PCR detecta um segmento de DNA específico da *B. abortus* em material de aborto, em secreções e excreções. É uma técnica bastante sensível e específica, mas requer equipamentos sofisticados e pessoal treinado.

Métodos Indiretos ou Sorológicos

O conhecimento da dinâmica das imunoglobulinas nos diferentes estágios da resposta imune tem orientado o desenvolvimento de inúmeros testes sorológicos. Esses testes visam demonstrar a presença de anticorpos contra *Brucella* sp em vários fluidos corporais, como soro sanguíneo, leite, muco vaginal e sêmen. Um teste sorológico perfeito deveria detectar infecção nos estágios

iniciais da doença, antes da ocorrência do aborto, e deveria discriminar anticorpos de vacinação e de infecção; da mesma maneira, não deveria apresentar reações falso-positivas ou falso-negativas. Ainda não existe tal teste para o diagnóstico da brucelose. Acrescente-se que nenhuma doença conta com um recurso diagnóstico com esse desempenho.

As reações falso-positivas são decorrentes de dois fatores distintos. Primeiro, a reação pode ocorrer devido à presença de anticorpos não específicos presentes nas infecções por outras bactérias, como *Yersinia enterocolitica* O:9, *Salmonella* sp, *Escherichia coli* O:157, ou *Pseudomonas* sp. Segundo, podem decorrer como resultado da vacinação com B19 após a idade recomendada.

A resposta sorológica à infecção por *Brucella* sp é influenciada por muitos fatores, os quais refletem no desempenho das diferentes provas sorológicas. Destacam-se, entre esses fatores, o longo e variável período de incubação da doença, durante o qual a sorologia pode ser negativa, a condição vacinal dos animais, a natureza do desafio, a variação individual de resposta à vacinação e à infecção e o estágio da gestação no momento da infecção. A melhor estratégia – que tem sido validada por vários países que conseguiram avanços significativos no combate à brucelose – costuma ser a combinação de testes, utilizados em série. Essa estratégia tem como base a escolha de um teste de triagem de fácil execução, barato e de boa sensibilidade, seguido de um teste confirmatório, a ser realizado apenas nos soros que resultarem positivos no teste anterior, geralmente mais elaborado, porém com melhor especificidade que o teste de triagem. Esse teste confirmatório tem que ter também boa sensibilidade.

A quantidade de testes indiretos disponíveis para o diagnóstico de brucelose é bastante ampla; cada país, segundo suas disponibilidades e características, deve escolher aqueles que melhor se adaptem à sua estratégia. Em geral, os testes sorológicos são classificados segundo o antígeno utilizado na reação. Nos testes

de aglutinação (lenta, com antígeno acidificado, do anel em leite, de Coombs), de fixação do complemento ou imunofluorescência indireta, o antígeno é representado por células inteiras de *B. abortus*. Nos testes de imunodifusão em gel (dupla ou radial), Elisa (indireto e competitivo), hemólise indireta e *Western blot*, o antígeno é representado pelo lipopolissacarídeo da parede celular da *B. abortus* semipurificado.

A escolha dos métodos sorológicos precisa levar em consideração o custo, o tamanho e as características da população sob vigilância, a situação epidemiológica da doença, a sensibilidade e a especificidade dos testes, bem como a utilização de vacinas.

No Brasil, o PNCEBT definiu como oficiais os seguintes testes: Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), Anel em Leite (TAL), 2-Mercaptoetanol (2-ME) e Fixação de Complemento (FC). Os dois primeiros como testes de triagem; os dois últimos como confirmatórios. Células inteiras da amostra de *B. abortus* 1119-3 são utilizadas na preparação dos antígenos.

Testes de Triagem

Teste de Soroaglutinação com Antígeno Acidificado Tamponado (AAT)

É preparado com o antígeno na concentração de 8%, tamponado em pH ácido (3,65) e corado com o Rosa de Bengala. É o teste de triagem do rebanho. A maioria dos soros de animais bacteriologicamente positivos apresenta reação a essa prova. Como podem ocorrer alguns poucos casos de reações falso-positivas em decorrência da utilização da vacina B19, sugere-se a confirmação por meio de testes de maior especificidade para se evitar o sacrifício de animais não infectados. É uma prova qualitativa, pois não indica o título de anticorpos do soro testado. A leitura revela a presença ou a ausência de IgG1. Nas provas clássicas de aglutinação, reagem tanto anticorpos IgM como IgG, enquanto que, nessa prova, reagem somente os isotipos da classe IgG1. O pH acidificado da mistura

soro-antígeno inibe a aglutinação do antígeno pelas IgM. O AAT detecta com maior precocidade as infecções recentes, sendo, nesse aspecto, superior à prova lenta em tubos.

Teste do Anel em Leite (TAL)

Foi idealizado para ser aplicado em misturas de leite de vários animais, uma vez que a baixa concentração celular do antígeno (4%) torna-o bastante sensível. Empregam-se mais comumente antígenos corados com hematoxilina, que dá a cor azul característica à reação positiva. Se existirem anticorpos no leite, eles se combinarão com as *B. abortus* do antígeno, formando uma malha de complexo antígeno-anticorpo que, por sua vez, será arrastada pelos glóbulos de gordura, fazendo com que se forme um anel azulado na camada de creme do leite (reação positiva). Não havendo anticorpos presentes, o anel de creme terá a coloração branca, e a coluna de leite permanecerá azulada (reação negativa). É uma prova de grande valor não só para se detectar rebanhos infectados, como também para se monitorar rebanhos leiteiros livres de brucelose. Tal prova tem limitações, pois poderá apresentar resultados falso-positivos em presença de leites ácidos, ou provenientes de animais portadores de mamites ou, ainda, de animais em início de lactação (colostro).

Testes Confirmatórios

Teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME)

É uma prova quantitativa seletiva que detecta somente a presença de IgG no soro, que é a imunoglobulina indicativa de infecção crônica. Deve ser executada sempre em paralelo com a prova lenta em tubos. Baseia-se no fato de os anticorpos da classe IgM, com configuração pentamérica, degradarem-se em subunidades pela ação de compostos que contenham radicais tiol. Essas subunidades não dão origem a complexos suficientemente grandes para provocar aglutinação. Desse modo, soros com predomínio de IgM apresentam reações negativas nessa prova e

reações positivas na prova lenta. A interpretação dos resultados é dada pela diferença entre os títulos dos soros sem tratamento (prova lenta), frente ao soro tratado com 2-ME.

Os resultados positivos na prova lenta e negativos no 2-ME devem ser interpretados como reações inespecíficas ou como devido a anticorpos residuais de vacinação com B19.

Resultados positivos em ambas as provas indicam a presença de IgG, que são as aglutininas relacionadas com infecção, devendo os animais ser considerados infectados.

Teste de Soroaglutinação em Tubos (SAT)

Também chamada de prova lenta – porque a leitura dos resultados é feita em 48 horas –, é a prova sorológica mais antiga e ainda hoje bastante empregada. É utilizada em associação com o teste do 2-Mercaptoetanol para confirmar resultados positivos em provas de rotina. É uma prova padronizada frente a um soro padrão internacional, sendo o resultado expresso em unidades internacionais.

A prova permite identificar uma alta proporção de animais infectados, porém, costuma apresentar resultados falso-negativos, no caso de infecção crônica e, em algumas situações, podem aparecer títulos significativos em animais não infectados por *B. abortus* como decorrência de reações cruzadas com outras bactérias. Em animais vacinados com B19 acima de 8 meses, uma proporção importante deles pode apresentar títulos de anticorpos para essa prova por um longo tempo, ou permanentemente.

Fixação de Complemento (FC)

Este teste tem sido empregado em diversos países que conseguiram erradicar a brucelose ou estão em fase de erradicá-la. É o teste de referência recomendado pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) para o trânsito internacional de animais. Na brucelose bovina, apesar de a FC detectar tanto IgG1 como IgM, o isotipo IgG1 é muito mais efetivo como fixador do complemento.

Animais infectados permanecem positivos por períodos mais longos e com títulos de anticorpos fixadores de complemento mais elevados do que os detectados nas provas de aglutinação. Em animais vacinados acima de 8 meses de idade, os anticorpos que fixam complemento desaparecem mais rapidamente do que os aglutinantes.

É um teste trabalhoso e complexo, que exige pessoal treinado e laboratório bem equipado.

Novos Métodos de Diagnóstico

Teste de Elisa Indireto (I-Elisa)

Existem vários protocolos de I-Elisa que têm apresentado bons resultados. Emprega-se como antígeno o lipopolissacarídeo de *B. abortus* imobilizado em placas de 96 poços. Como conjugado, utiliza-se um anticorpo monoclonal anti-IgG1 bovina conjugado com a peroxidase. Agentes quelantes (EDTA/EGTA) são utilizados para minimizar reações não específicas. O teste possui alta sensibilidade; entretanto, sua especificidade assemelha-se àquela do AAT.

Teste de Elisa Competitivo (C-Elisa)

Neste teste, utiliza-se também como antígeno imobilizado na fase sólida o lipopolissacarídeo (LPS) de *B. abortus*. No momento da prova, o soro a testar é misturado com um anticorpo monoclonal específico contra a cadeia "O" de *B. abortus*. Um conjugado peroxidase-anti-IgG é utilizado para detectar o anticorpo monoclonal ligado ao antígeno imobilizado na fase sólida do teste. Quanto maior a quantidade de anticorpos anticadeia "O" de *Brucella* sp no soro testado, maior a competição com o anticorpo monoclonal específico e menor a quantidade de cor desenvolvida. Por comparação com um controle, é possível determinar a quantidade relativa de anticorpos anti-*Brucella* no soro teste. É um teste muito sensível e específico, e é recomendado pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) como teste confirmatório para o diagnóstico de brucelose, assim como a FC. Seu custo é elevado.

Teste de Polarização de Fluorescência (FPA)

O antígeno utilizado no teste é preparado com o polissacarídeo O, também denominado cadeia "O", de *B. abortus*, conjugado com o isotiocianato de fluoresceína. A prova se fundamenta na comparação de velocidades dos movimentos aleatórios das moléculas em solução. O tamanho molecular é o principal fator que influencia a velocidade de rotação de uma molécula, sendo inversamente proporcional a ela. Havendo anticorpos no soro, haverá a formação dos complexos anticorpo-antígeno-conjugado, cuja velocidade de rotação será inferior à do antígeno-conjugado isolado. Determina-se a velocidade de rotação das moléculas com o auxílio de um equipamento de iluminação por luz polarizada. Por meio da utilização de controles e de soro pré-titulado, é possível calcular a quantidade de anticorpos presente no soro testado. O teste é concluído em poucos minutos; pode ser realizado em soro e leite e tem-se mostrado muito promissor para o diagnóstico de brucelose também em outras espécies.

Controle da Brucelose

O controle da brucelose apoia-se basicamente em ações de vacinação massal de fêmeas e diagnóstico e sacrifício dos animais positivos. São também muito importantes as medidas complementares, que visam diminuir a dose de desafio – caso ocorra a exposição – bem como é importante o controle de trânsito para os animais de reprodução. Programas de desinfecção e utilização de piquetes de parição são iniciativas simples que trazem como resultado a diminuição da quantidade de brucelas vivas presentes no ambiente. Isso representa diminuir a dose de desafio, o que, por sua vez, significa aumentar os índices de proteção da vacina e diminuir a chance de a bactéria infectar um novo suscetível.

Com uma cobertura vacinal ao redor de 80% – ou seja, quando cerca de 80% das fêmeas em idade de procriar de uma

população estiverem vacinadas –, a freqüência de animais infectados será bastante baixa. Portanto, uma redução importante da prevalência pode ser obtida utilizando apenas um bom programa de vacinação. Por essa razão, a vacinação deve ser priorizada nas fases iniciais do programa, quando as prevalências são elevadas.

A eliminação das fontes de infecção, feita por meio de uma rotina de testes diagnósticos com sacrifício dos positivos, é a base das ações que visam criar propriedades livres da doença.

Em resumo, inicialmente deve-se baixar a prevalência com um bom programa de vacinação e, paulatinamente, ir aumentando as ações de diagnóstico para a obtenção de propriedades livres.

Em regiões onde a freqüência da doença é muito baixa, a implantação de eficientes sistemas de vigilância, adaptados à realidade local, pode ser de grande valia na descoberta de focos de brucelose.

Assim sendo, os métodos de controle da brucelose são bastante simples. O mais importante é conhecer muito bem tanto a epidemiologia da doença, quanto a população em que as ações deverão ser desenvolvidas, e escolher a melhor estratégia para implementá-las.

Vacinas contra Brucelose

Desde a identificação do agente etiológico da brucelose, vários pesquisadores têm procurado desenvolver vacinas que sejam protetoras e que não interfiram no diagnóstico da doença. Em decorrência desses estudos, vem sendo desenvolvido um grande número de vacinas vivas atenuadas, mortas, de subunidades, recombinantes e de DNA. Muitas dessas vacinas mostraram-se pouco protetoras, como as vacinas mortas, ou ainda estão em fases de testes, como as vacinas de subunidades, recombinantes e de DNA.

As vacinas vivas atenuadas são aquelas que efetivamente foram e ainda são utilizadas nos programas de controle da

brucelose. Duas delas, recomendadas pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), são as mais empregadas: a B19 e a vacina não indutora de anticorpos aglutinantes (amostra RB51). Ambas são boas indutoras de imunidade celular.

Vacina B19

A vacina B19 é uma amostra de *B. abortus* lisa, que foi isolada do leite de uma vaca Jersey em 1923. Depois de acidentalmente esquecida por mais de um ano à temperatura ambiente, a amostra perdeu a virulência e desde a década de 1930 tem sido utilizada como vacina. Essa vacina foi empregada em vários países que erradicaram a doença como, por exemplo, Austrália, Canadá, Dinamarca, Inglaterra, Holanda, Suécia, entre outros. Foi também a vacina utilizada no programa de controle nos EUA até a primeira metade da década de 1990. No Brasil, é a vacina obrigatória para bezerras com idade entre 3 e 8 meses.

A B19 é atenuada para fêmeas jovens; pode, entretanto, causar orquite nos machos e provocar aborto se administrada durante a gestação. Pode ainda infectar o homem, e dar origem à doença. Portanto, não se recomenda a vacinação de machos ou fêmeas gestantes com a amostra B19. Durante a vacinação, devem ser adotadas certas precauções quanto à proteção individual (uso de óculos de proteção, luvas, etc.) e quanto ao descarte de seringas e frascos de vacinas.

Por ser uma amostra lisa de *B. abortus*, a B19 induz a formação de anticorpos específicos contra o LPS liso e pode interferir no diagnóstico sorológico da brucelose. A persistência desses anticorpos está relacionada com a idade de vacinação. Se as fêmeas forem vacinadas com idade superior a 8 meses, há grande probabilidade de produção de anticorpos que perdurem e interfiram no diagnóstico da doença após os 24 meses de idade. Quando a vacinação ocorre até os 8 meses de idade, tais anticorpos desaparecem rapidamente, e os animais acima de 24 meses são totalmente negativos nas provas sorológicas.

Vacina não Indutora de Anticorpos Aglutinantes (amostra RB51)

A vacina é elaborada com uma amostra de *B. abortus* rugosa atenuada, originada da amostra lisa virulenta 2308 que sofreu passagens sucessivas em meio contendo concentrações subinibitórias de rifampicina. Ela possui características de proteção semelhantes às da B19, porém, por ser uma amostra rugosa, não induz a formação de anticorpos anti-LPS liso e não interfere no diagnóstico sorológico da doença.

Atualmente, a vacina não indutora de anticorpos aglutinantes (amostra RB51) é a vacina oficial do programa de controle de brucelose dos EUA, do México e do Chile. Também está aprovada em outros países onde vem sendo utilizada. No Brasil, será empregada para a vacinação estratégica de fêmeas adultas.

Por ser uma vacina viva, o seu manuseio exige as mesmas precauções da B19, já referidas.

Doença no Ser Humano

A brucelose humana é uma doença importante, mas de difícil diagnóstico porque apresenta sintomatologia inespecífica.

A transmissão da doença ocorre pelo contato do agente com mucosas ou soluções de continuidade da pele. O grande risco para a saúde pública decorre da ingestão de leite cru ou de produtos lácteos não submetidos a tratamento térmico (queijo fresco, iogurte, creme, etc.), oriundos de animais infectados. A carne crua com restos de tecido linfático e o sangue de animais infectados podem conter microorganismos viáveis e, portanto, de igual modo representam risco para a população humana consumidora.

A brucelose é uma zoonose que apresenta um forte componente de caráter ocupacional: tratadores e veterinários, por força de suas atividades, freqüentemente manipulam anexos placentários, fluidos fetais e carcaças de animais, expondo-se ao risco de infecção quando esses materiais provêm de animais

infectados. O manuseio da vacina B19, que é patogênica para o homem, também põe em risco algumas classes de profissionais. Magarefes, trabalhadores da indústria de laticínios e donas-de-casa, pelo contato com carne ou leite contaminados, são igualmente indivíduos sujeitos a um maior risco de infecção. Laboratoristas, por manipularem grandes massas bacterianas na produção de vacinas e antígenos, ou mesmo na rotina de diagnóstico direto, podem infectar-se por meio de soluções de continuidade da pele ou pelo contato com mucosas, sobretudo a conjuntiva e a mucosa respiratória (a inalação é uma eficiente forma de infecção).

No ser humano, os quadros clínicos mais graves são provocados pela *B. melitensis*, decrescendo em gravidade quando a doença é decorrente da infecção por *B. suis* e, assim, sucessivamente para a *B. abortus* e *B. canis*.

O período de incubação no ser humano pode variar de uma a três semanas até vários meses. A doença produzida pela *B. abortus* – agente mais difundido no nosso meio e responsável pelo real problema da brucelose bovina no país –, na grande maioria das vezes é caracterizada por sintomas inespecíficos, presentes nos processos bacterianos generalizados nos quais se destacam a febre, a sudorese noturna, e as dores musculares e articulares.

A enfermidade tanto pode manifestar-se de forma branda, com evolução para a cura espontânea, quanto grave e prolongada, acompanhada por toxemia. Seu curso pode ser dividido em duas fases, sendo a febre intermitente recorrente uma característica marcante. Na fase aguda prevalecem a febre, a debilidade, a cefaléia, as dores musculares e articulares, a sudorese noturna intensa, os calafrios e prostração. O quadro agudo pode evoluir para toxemia, trombocitopenia, endocardite e outras complicações, podendo levar à morte. Geralmente é confundida com gripe recorrente, sendo observadas fadiga, cefaléia, dores musculares e sudorese. Algumas das complicações mais freqüentes são tromboflebite, espondilite e artrite periférica.

Em geral, o tratamento é feito pela administração de uma associação de antibióticos por seis semanas. As drogas mais utilizadas são tetraciclinas, doxiciclina e rifampicina. Convém salientar que em caso de infecção acidental com a amostra RB51, o uso da rifampicina não é indicado.

Bibliografia

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. 3. ed. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud, 2001. v.1.

ALTON, G.G.; JONES, L.M.; ANGUS, R.D.; VERGER, J.M. *Techniques for the brucellosis laboratory*. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique, 1988.

BALDWIN, C.L.; PARENT, M. Fundamentals of host immune response against *Brucella abortus*: what the mouse model has revealed about control of infection. *Veterinary Microbiology*, v. 90, p. 367-382, 2002.

BRICKER, J. PCR as a diagnostic tool for brucellosis. *Veterinary Microbiology*, v. 90, p. 435-446, 2002.

CAMPERO, C.M. Brucellosis en toros: una revisión. *Veterinary Medicine*, v. 74, p. 8-14, 1993.

CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. *Técnicas de sero-aglutinación*. Ramos Mejía: Centro Panamericano de Zoonosis-OPS, 1968. (Nota Técnica nº 2)

CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. *Pruebas suplementarias para el diagnostico de la Brucelosis*. Ramos Mejía: Centro Panamericano de Zoonosis-OPS, 1982. (Nota Técnica nº 25)

CRAWFORD, R.P.; HUBER, J.D.; ADAMS, B.S. Epidemiology and surveillance. In: NIELSEN, K.; DUNCAN, J.R. *Animal Brucellosis*. Boca Raton: CRC Press, 1990. p. 131-151.

EAGLESOME, M.D.; GARCIA, M.M. Microbial agents associated with bovine genital tract infection and semen. Part I. *Brucella abortus*,

- Leptospira*, *Campylobacter fetus* and *Trichomonas foetus*. *Veterinary Bulletin*, v. 62, p. 743-775, 1992.
- GARCIA-CARRILLO, C. *La Brucelosis de los animales en America y su relacion con la infección humana*. Paris: Office International des Epizooties, 1987. p. 43-70.
- GORVEL, J.P.; MORENO, E. *Brucella* intracellular life: from invasion to intracellular replication. *Veterinary Microbiology*, v. 90, p. 281-297, 2002.
- MACMILLAN, A.P.; STACK, J. Bovine Brucellosis. In: OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. *Manual of standards for diagnostic tests and vaccines*. 4. ed. Paris: Office International des Epizooties, 2000. p. 328-345.
- NICOLETTI, P. Bovine abortion caused by *Brucella* sp. In: KIRKBRIDE, C.A. (Ed.). *Laboratory diagnosis of livestock abortion*. 3. ed. Ames: Iowa State University Press, 1990. p. 22-26.
- NIELSEN, K. Diagnosis of Brucellosis by serology. *Veterinary Microbiology*, v. 90, p. 447-459, 2002.
- NIELSEN, K.; GALL, D.; KELLY, W.; VIGLIOCCO, A.; HENNING, D.; GARCIA, M. *Immunoassay development: application to enzyme immunoassay for the diagnosis of brucellosis*. Nepean, Ontario: Animal Disease Research Institute. O.I.E. Reference Laboratory of Brucellosis. Agriculture and Agri-Food Canada, 1996.
- NIELSEN, K.; DUNCAN, J.R. *Animal Brucellosis*. Boca Raton: CRC Press, 1990.
- OLASCOAGA, C.R.C. Diagnóstico serológico de la Brucelosis. *Zoonosis*, v. 18, p. 107-141, 1976.
- OLIVEIRA, S.C.; SOEURT, N.; SPLITTER, G. Molecular and cellular interactions between *Brucella abortus* antigens and host immune responses. *Veterinary Microbiology*, v. 90, p. 417-424, 2002.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Brucelosis. *Sexto informe*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1986. (Série de Informes Técnicos, 740)
- PAULIN, L.M.; FERREIRA-NETO, J.S. *O combate à brucelose bovina. Situação Brasileira*. Jaboticabal: Funep, 2003.

POESTER, F.P.; GONÇALVES, V.S.P.; LAGE, A.P. Brucellosis in Brazil. *Veterinary Microbiology*, v. 90, p.55-62, 2002.

RUSSEL, A.D.; YARNYCH, V.S.; KOULIKOVSKII, A.V. (Ed.). *Guidelines on disinfection in animal husbandry for prevention and control of zoonotic diseases*. Geneva: World Health Organization, 1984. (WHO/VPH/84.4)

SAMARTINO, L.E.; ENRIGHT, F. M. Patogenesis of abortion of bovine Brucellosis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v.16, p. 95-101, 1993.

SCHURIG, G.G.; SRIRANGANATHAN, N.; CORBEL, M.J. Brucellosis vaccines: past, present and future. *Veterinary Microbiology*, v. 90, p. 479-496, 2002.

STEVENS, M.G.; OLSEN, S.C.; CHEVILLE, N.F. Comparative analysis of immune responses in cattle vaccinated with *Brucella abortus* strain 19 or strain RB51. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 44, p. 223-235, 1995.

STEVENS, M.G.; OLSEN, S.C., PALMER, M.V.; CHEVILLE, N.F. *Brucella abortus* strain RB51: a new Brucellosis vaccine for cattle. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v.19, p.766-774, 1997.

THOEN, C.O.; ENRIGHT, F.; CHEVILLE, N.F. Brucella. In: GYLES, C.L.; THOEN, C.O. (Eds.). *Pathogenesis of bacterial infections in animals*. 2. ed. Ames: Iowa State University Press, 1993. p. 236-247.

WRAY, C. Survival and spread of pathogenic bacteria of veterinary importance within the environment. *Veterinary Bulletin*, v. 45, p. 543-550, 1975.

WYCKOFF, III, J.H. Bovine T lymphocyte responses to *Brucella abortus*. *Veterinary Microbiology*, v. 90, p. 395-415, 2002.

TUBERCULOSE BOVINA (*Mycobacterium bovis*)

Definição

A tuberculose causada pelo *Mycobacterium bovis* é uma zoonose de evolução crônica que acomete principalmente bovinos e bubalinos. Caracteriza-se pelo desenvolvimento progressivo de lesões nodulares denominadas tubérculos, que podem localizar-se em qualquer órgão ou tecido.

Tendo em vista ser o presente manual parte integrante do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) em bovinos e bubalinos, os conceitos emitidos a seguir serão dirigidos a essas duas espécies animais.

Etiologia

As bactérias causadoras da tuberculose pertencem à família *Mycobacteriaceae*, gênero *Mycobacterium*. 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*.

Três espécies de hospedeiros contribuíram para a perpetuação da tuberculose através dos séculos: o bovino, o homem e as aves em geral.

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

O *M. bovis* tem um amplo espectro de patogenicidade para as espécies domésticas e silvestres, principalmente bovinos e bubalinos, e pode participar da etiologia da tuberculose humana. A doença humana causada pelo *M. bovis* é também denominada tuberculose zoonótica.

O *M. tuberculosis* é a principal causa de tuberculose no ser humano. Pode infectar bovinos, porém não causa doença progressiva nessa espécie; todavia, ocasionalmente, pode sensibilizá-los ao teste tuberculínico.

O *M. avium* é o causador da tuberculose em várias espécies de aves e é integrante do complexo MAIS (*M. avium*, *M. intracellulare* e *M. scrofulaceum*). As micobactérias do complexo MAIS causam lesões granulomatosas nos linfonodos do trato gastrointestinal de suínos, a linfadenite granulomatosa, que leva a sérias perdas no abate desses animais. No ser humano, a infecção pelas micobactérias do complexo MAIS tem importância para os indivíduos com deficiência imunológica. As micobactérias do complexo MAIS não são patogênicas para os bovinos e bubalinos; entretanto, provocam reações inespecíficas à tuberculinização, dificultando o diagnóstico da tuberculose nessas espécies.

Epidemiologia

Distribuição

Os países que implantaram programas de controle da tuberculose animal ao longo do século passado, com bases em tuberculinização e sacrifício dos animais reagentes, conseguiram reduzir consideravelmente a frequência de animais infectados.

Nos dias atuais, a prevalência da doença é maior nos países em desenvolvimento, e menor nos países desenvolvidos, onde o controle e a erradicação encontram-se em fase avançada. Alguns países da Europa já erradicaram a doença; outros estão na etapa final de erradicação, com prevalências baixas. Na América Latina e Caribe existem áreas com prevalência que ultrapassa 1%. No Brasil,

dados de notificações oficiais indicam uma prevalência média nacional de 1,3% de animais reagentes à tuberculina no período de 1989 a 1998. Em Minas Gerais, um estudo realizado pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) em 1999, envolvendo aproximadamente 1.600 propriedades e 23.000 animais, estimou uma prevalência de 0,85% de animais reagentes ao teste de tuberculinização. No mesmo estudo, foram detectados 5% de propriedades com animais reagentes.

Importância Econômica

No Brasil, no decorrer dos últimos anos, verificou-se que o controle da tuberculose bovina não motivou os médicos veterinários, os criadores, as autoridades sanitárias e os consumidores de produtos de origem animal. Em parte, isso se deve ao fato de ser uma doença crônica que não apresenta sinais clínicos alarmantes – aborto, febre alta, queda abrupta de produção – como é o caso das doenças de caráter agudo.

Quando, por alguma razão, o criador é alertado para o problema da tuberculose e procura auxílio profissional, a prevalência no rebanho revela-se alta, de maneira geral.

A importância econômica atribuída à doença bovina está baseada nas perdas diretas resultantes da morte de animais, da queda no ganho de peso e diminuição da produção de leite, do descarte precoce e eliminação de animais de alto valor zootécnico e condenação de carcaças no abate. Estima-se que os animais infectados percam de 10% a 25% de sua eficiência produtiva. Existe ainda a perda de prestígio e credibilidade da unidade de criação onde a doença é constatada.

Mecanismos de Transmissão

A mais significativa fonte de infecção para os rebanhos é o bovino ou o bubalino infectados. A principal forma de introdução da tuberculose em um rebanho é a aquisição de animais infectados.

Outras espécies de animais podem assumir papel importante como reservatório do *M. bovis*, em condições de introduzir ou reintroduzir a doença em rebanhos bovinos. Em países desenvolvidos, onde a tuberculose bovina encontra-se em fase final de erradicação ou já erradicada, espécies silvestres assumem importância como reservatório do *M. bovis* para bovinos. Na Europa, verificou-se que o texugo (*Meles meles*) fez a tuberculose bovina ressurgir em áreas de onde já havia sido erradicada. Na Nova Zelândia, um pequeno marsupial silvestre (*Trichosurus vulpecula*) é apontado como um dos principais responsáveis pela reinfecção de bovinos pelo *M. bovis*. Nos EUA, acredita-se que os cervídeos tenham alguma importância como reservatório de *M. bovis* para bovinos. No Brasil, certamente existem espécies silvestres suscetíveis ao *M. bovis*, mas é desconhecida a importância desses animais como reservatório do agente para bovinos.

Eventualmente, o homem com tuberculose causada pelo *M. bovis* pode ser fonte de infecção para os rebanhos.

Em um animal infectado, o *M. bovis* é eliminado pelo ar expirado, pelas fezes e urina, pelo leite e outros fluidos corporais, dependendo dos órgãos afetados. A eliminação do *M. bovis* tem início antes do aparecimento dos sinais clínicos.

A principal porta de entrada do *M. bovis* é a via respiratória; a transmissão, em aproximadamente 90% dos casos, ocorre pela inalação de aerossóis contaminados com o microorganismo. O trato digestivo também é porta de entrada da tuberculose bovina, principalmente em bezerros alimentados com leite proveniente de vacas com mastite tuberculosa e em animais que ingerem água ou forragens contaminadas. Nesse caso, o complexo primário localizar-se-á nos órgãos digestivos e linfonodos regionais.

Em estábulos, ao abrigo da luz, o *M. bovis* tem condições de sobreviver por vários meses. Alguns fatores podem contribuir para que a enfermidade se propague com maior eficiência. Entre eles, destacam-se de modo especial a aglomeração dos animais em estábulos e a inadequação das instalações zootécnicas. Ambos os

fatores podem ampliar a sobrevivência da bactéria no ambiente e propiciar o contato estreito e freqüente entre os animais infectados e suscetíveis.

Raramente vacas com tuberculose genital transmitem a doença ao feto pela via transplacentária. Pode ocorrer transmissão sexual nos casos de epididimite e metrite tuberculosa. A infecção cutânea pode ocorrer por contato com objetos contaminados. Porém, esses três últimos mecanismos de transmissão são pouco freqüentes.

A infecção pelo *M. bovis* se propaga nos animais independentemente do sexo, da raça ou da idade. A introdução e a manutenção da doença em um rebanho são fortemente influenciadas por características da unidade de criação, entre as quais se destacam o tipo de exploração, o tamanho do rebanho, a densidade populacional e as práticas zootécnicas e sanitárias. Observa-se que a doença é mais freqüente em rebanhos leiteiros do que em rebanhos de corte. Contudo, quando bovinos de corte e bubalinos são mantidos em confinamento ou submetidos a condições naturais de aglomeração – em torno de bebedouros durante a seca ou nas partes mais altas das pastagens durante as enchentes – ficam submetidos às mesmas condições de risco. Constituem práticas comuns que podem introduzir a doença no rebanho tanto a alimentação de bezerros com leite de vacas tuberculosas quanto a aquisição de receptoras de embrião sem controle sanitário.

Patogenia

Aproximadamente 90% das infecções pelo *M. bovis* em bovinos e bubalinos ocorrem pela via respiratória por meio da inalação de aerossóis contaminados com o microorganismo. Uma vez atingido o alvéolo, o bacilo é capturado por macrófagos, sendo o seu destino determinado pelos seguintes fatores: virulência do microorganismo, carga infectante e resistência do hospedeiro.

Na fase seguinte, caso não sejam eliminados, os bacilos multiplicar-se-ão dentro dos macrófagos até destruí-los. Os bacilos liberados pelos macrófagos infectados serão fagocitados por outros macrófagos alveolares ou por monócitos recém-chegados da corrente circulatória, atraídos pelos próprios bacilos liberados, ou por fatores quimiotáticos produzidos pelo hospedeiro. A terceira fase começa quando cessa essa multiplicação, cerca de 2 a 3 semanas após a inalação do agente infeccioso, e é caracterizada por resposta imune mediada por células e reação de hipersensibilidade retardada. Nessa fase, em decorrência da reação de hipersensibilidade retardada, o hospedeiro destrói seus próprios tecidos por meio da necrose de caseificação para conter o crescimento intracelular das micobactérias. Com a mediação dos linfócitos T, ocorre a migração de novas células de defesa, culminando com a formação dos granulomas. Tais granulomas são constituídos por uma parte central, por vezes com área de necrose de caseificação, circundada por células epitelióides, células gigantes, linfócitos, macrófagos e uma camada periférica de fibroblastos. Os bacilos da lesão tuberculosa do parênquima pulmonar propagam-se ao linfonodo satélite, no qual desencadeiam a formação de novo granuloma, constituindo, assim, o complexo primário.

As lesões pulmonares têm início na junção bronquíolo-alveolar com disseminação para os alvéolos e linfonodos brônquicos, podendo regredir, persistir estabilizadas ou progredir. A disseminação da infecção para outros órgãos pode ocorrer precocemente durante o desenvolvimento da doença, ou numa fase tardia, provavelmente em função de uma queda na imunidade do animal. A generalização da infecção pode assumir duas formas: 1) miliar, quando ocorre de maneira abrupta e maciça, com entrada de um grande número de bacilos na circulação; 2) protraída, mais comum, que se dá por via linfática ou sanguínea, acometendo o próprio pulmão, linfonodos, fígado, baço, úbere, ossos, rins, sistema nervoso central, disseminando-se por, praticamente, todos os tecidos.

As lesões macroscópicas têm, em geral, coloração amarelada em bovinos, e ligeiramente esbranquiçadas em búfalos; apresentam-se na forma de nódulos de 1 a 3 cm de diâmetro, ou mais, que podem ser confluentes, de aspecto purulento ou caseoso, com presença de cápsula fibrosa, podendo apresentar necrose de caseificação no centro da lesão ou, ainda, calcificação nos casos mais avançados. Embora possam estar presentes em qualquer tecido do animal, as lesões são encontradas com mais freqüência em linfonodos (mediastínicos, retrofaríngeos, bronquiais, parotídeos, cervicais, inguinais superficiais e mesentéricos), em pulmão e fígado.

Sendo uma doença de evolução muito lenta, os sinais clínicos são pouco freqüentes em bovinos e bubalinos. Em estágios avançados, e dependendo da localização das lesões, os bovinos podem apresentar caquexia progressiva, hiperplasia de linfonodos superficiais e/ou profundos, dispnéia, tosse, mastite e infertilidade, entre outros.

Diagnóstico

O diagnóstico da tuberculose bovina pode ser efetuado por métodos diretos e indiretos. Os diretos envolvem a detecção e identificação do agente etiológico no material biológico. Os indiretos pesquisam uma resposta imunológica do hospedeiro ao agente etiológico, que pode ser humoral (produção de anticorpos circulantes) ou celular (mediada por linfócitos e macrófagos). A tuberculinização é uma medida da imunidade celular contra *M. bovis* por uma reação de hipersensibilidade retardada (tipo IV).

A reação tuberculínica, a bacteriologia e a histopatologia são os métodos mais utilizados para o diagnóstico da tuberculose bovina e bubalina. A grande inespecificidade dos sinais clínicos, a dificuldade de isolamento do *M. bovis* do animal vivo e o baixo nível de anticorpos durante o período inicial de infecção fazem com que os diagnósticos clínico, bacteriológico e sorológico tenham um valor relativo.

O diagnóstico clínico, associado à tuberculinização, possibilita a identificação de animais com tuberculose avançada, os quais geralmente apresentam um decréscimo da sensibilização alérgica, podendo, por vezes, chegar à anergia. Pode-se afirmar que existem métodos diagnósticos adequados para o desenvolvimento de programas de controle e erradicação da tuberculose bovina; entretanto, não existe um método diagnóstico da tuberculose bovina que tenha uma eficácia absoluta. A prova tuberculínica, a vigilância epidemiológica em matadouros, os controles sanitários, o diagnóstico de laboratório, são todos elementos básicos que devem ser empregados com critério e de modo adequado a cada situação epidemiológica. Independentemente dos métodos de diagnóstico utilizados, é fundamental que os animais positivos sejam abatidos, evitando-se, assim, a disseminação da tuberculose.

Diagnóstico Clínico

Possui valor relativo, porque o animal pode estar infectado – com um foco localizado – e apresentar-se aparentemente sadio. O diagnóstico clínico torna-se importante para os animais com tuberculose avançada, para os quais o teste tuberculínico perde seu valor pela possibilidade do fenômeno da anergia à tuberculina. Os sinais clínicos mais freqüentes são a caquexia progressiva e a tosse seca, curta e repetitiva. Animais tuberculosos, quando submetidos à marcha forçada, tendem a posicionar-se atrás dos demais, demonstrando cansaço e baixa capacidade respiratória. Pode ocorrer linfadenomegalia localizada ou generalizada.

Diagnóstico Anatomopatológico

A inspeção de carcaça ou a necropsia detalhada constituem importantes ferramentas no diagnóstico da tuberculose bovina.

As lesões provocadas pelo *M. bovis* não são patognomônicas da tuberculose bovina. Apresentam coloração amarelada em bovinos, e ligeiramente esbranquiçadas em búfalos. São nódulos de 1 a 3 cm de diâmetro ou mais, que podem ser confluentes, de

aspecto purulento ou caseoso, com presença de cápsula fibrosa, podendo apresentar necrose de caseificação no centro da lesão, ou, ainda, calcificação nos casos mais avançados. Em 70% a 90% dos casos, as lesões encontram-se em linfonodos de cabeça e tórax, e 66% dos animais necropsiados apresentam apenas uma única lesão visível. Em 95% dos casos, as lesões estão localizadas em linfonodos (mediastínicos, retrofaríngeos, bronquiais, parotídeos, cervicais, inguinais superficiais e mesentéricos), pulmão e fígado. Com menor frequência, podem estar presentes em intestino e tecido mamário, ou em qualquer outro órgão ou tecido do animal.

Animais reagentes ao teste tuberculínico podem não apresentar lesões visíveis a olho nu; isso não significa, porém, que se trata de reação falso-positiva. As lesões podem estar em estágios iniciais de evolução, ou simplesmente não terem sido encontradas pela necropsia.

Fragmentos de tecido com lesões sugestivas de tuberculose (nódulos caseosos em linfonodos, pulmão, fígado, etc.) podem ser enviados para exame histopatológico em frasco de boca larga (plástico ou vidro), hermeticamente fechado, imersos em solução de formaldeído a 10%, observando-se a proporção de uma parte de amostra para 10 de formaldeído.

Diagnóstico Bacteriológico

O diagnóstico definitivo da tuberculose é realizado mediante o isolamento e a identificação do agente por métodos bacteriológicos.

Amostras frescas podem ser fixadas em lâmina e coradas pelo método de Ziehl-Neelsen para a pesquisa de bacilos álcool ácido resistentes (BAAR), contudo, a sensibilidade do método é baixa, e um resultado positivo sugere fortemente tratar-se de micobactéria, mas não informa a espécie. Essa mesma coloração pode ser empregada para colônias isoladas em meios de cultura. Muitas características, inclusive a propriedade tintorial, superpõem-se nos gêneros *Mycobacterium* e *Nocardia*, tornando difícil, em alguns casos, a diferenciação entre ambos.

O diagnóstico bacteriológico por isolamento requer um longo período de incubação (30 a 90 dias), pois o *M. bovis* cresce lentamente em meios de cultura artificiais. Para permitir o isolamento de qualquer bactéria do gênero *Mycobacterium* sp, recomenda-se a semeadura concomitante nos meios de cultura Löwenstein-Jensen e Stonebrink-Lesslie.

As análises bacteriológicas completas só serão necessárias nas seguintes situações:

- confirmação da presença de infecção tuberculosa em bovinos de um país ou região onde não foi comprovada anteriormente;
- estudo de animais positivos ao teste tuberculínico, nos quais não se observaram lesões macroscópicas sugestivas de tuberculose. Nesses casos, a pesquisa bacteriológica será feita especialmente em amostras de linfonodos do trato respiratório e intestinal;
- confirmação da presença de 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 unidades 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.

Diagnóstico Alérgico-cutâneo

O diagnóstico alérgico-cutâneo com tuberculina é o instrumento básico para programas de controle e erradicação da tuberculose bovina em todo o mundo. Pode revelar infecções incipientes a partir de 3 a 8 semanas da exposição ao *Mycobacterium*, alcançando boa sensibilidade e especificidade e

sendo considerado pela OIE como técnica de referência. Para que realmente funcione como ferramenta diagnóstica em um programa de controle, é indispensável que o procedimento seja padronizado quanto à produção das tuberculinas, equipamentos para realização das provas, tipos de provas e critérios de leitura.

Tuberculinas

A tuberculina pode ser definida como um extrato obtido de filtrados de cultivos de *Mycobacterium* sp previamente esterilizados pelo calor, para ser utilizado com o propósito de medir a hipersensibilidade retardada causada pela infecção por micobactérias. A tuberculina – preparada pela primeira vez por Robert Koch, em 1890 – é atualmente denominada “tuberculina velha” (OT-Old tuberculin).

Em 1934, Seibert desenvolveu a tuberculina conhecida como PPD (Purified Protein Derivative), em que as proteínas são separadas do meio de cultura por precipitação, purificadas por lavagens com ácidos e fosfatos e diluídas na concentração adequada para uso. No Brasil, a prova tuberculínica é realizada com o PPD bovino, produzido a partir da amostra AN5 de *M. bovis*, contendo 1 mg de proteína por mL (32.500 UI). No teste cervical comparativo, utiliza-se também o PPD aviário, produzido a partir da amostra D4 de *M. avium*, contendo 0,5 mg de proteína por mL (25.000 UI). As tuberculinas devem ser mantidas sob a temperatura de 2° a 8° C (não congelar) e têm validade de um ano após a data de fabricação. Os frascos precisam ser protegidos da luz solar direta durante os trabalhos de campo. Uma vez aberto um frasco de tuberculina, seu conteúdo deve ser utilizado num único dia, descartando-se eventuais sobras. O PPD bovino apresenta-se sob a forma líquida incolor e o PPD aviário, sob a forma líquida com coloração vermelho claro.

Mecanismos da Reação Alérgica à Tuberculina

Alergia significa uma reação anormal e específica do organismo após sensibilização por uma substância estranha.

A reação alérgica à tuberculina ocorre de várias maneiras: após infecção por micobactérias, administração parenteral de proteínas micobacterianas, inoculação de micobactérias inativadas ou vacina BCG. Na prática, a alergia tuberculínica indica que o organismo está infectado por bacilos virulentos, atenuados, inativados, vacinais ou ambientais, não significando que tenha imunidade contra a tuberculose, nem indicando o órgão ou local da infecção ou extensão das lesões.

A reação é mediada por células e classificada como reação de hipersensibilidade retardada do tipo IV. Quando se injeta a tuberculina na pele de um animal normal, não ocorre nenhuma resposta significativa. Mas, ao injetá-la em um animal infectado por micobactérias, portanto, sensibilizado para a tuberculina, ocorrerá uma resposta de hipersensibilidade retardada com endurecimento e edema progressivo no local da inoculação, que atinge seu máximo às 72 horas, com uma variação de até 6 horas para mais ou para menos. Após esse tempo, a reação tende a diminuir lentamente. A intensidade da reação cutânea pode ser quantificada pela mensuração do tamanho do endurecimento ou do engrossamento da pele. A reação à tuberculina pode evoluir para uma necrose central, algumas vezes acompanhada por vesícula e endureção características de uma hipersensibilidade intensa.

Após a inoculação, a tuberculina é fagocitada e processada, e seus peptídeos são apresentados no complexo principal de histocompatibilidade (MHC) do tipo II na superfície celular de macrófagos. A resposta específica inicia-se quando linfócitos T sensibilizados reconhecem, então, os antígenos tuberculínicos e secretam citocinas, entre elas o interferon gama. Algumas dessas citocinas ativam células endoteliais venulares que recrutam monócitos e outros leucócitos do sangue; outras convertem os monócitos em macrófagos ativados capazes de eliminar o antígeno. As células T envolvidas na reação de hipersensibilidade retardada são, em geral, do tipo CD4+ Th1.

Há bovinos que, embora infectados, não reagem à tuberculinização devido a uma deficiência temporária do sistema imunitário, induzida por inoculações sucessivas de tuberculina ou aplicação de altas concentrações do antígeno, denominada dessensibilização. É um fenômeno de curta duração e cessa quando a população de linfócitos T é restabelecida. Reações falso-negativas também podem ocorrer em tuberculinizações próximas ao parto ou em animais com alimentação deficiente. Em animais com tuberculose generalizada, ou em estágios finais da doença, há um excesso de antígeno circulante que induz uma imunossupressão específica e, por conseqüência, uma inibição da produção de citocinas necessárias à ativação de macrófagos participantes da reação de hipersensibilidade retardada. Trata-se do fenômeno de anergia referido em páginas anteriores.

Equipamentos para os Testes de Tuberculinização

A qualidade da prova tuberculínica é conseqüência direta da escolha dos instrumentos para realizá-la. Devem ser adotados os equipamentos desenvolvidos especificamente para essa finalidade. A seringa com dosador automático de 0,1 mL é indispensável e pode ser acompanhada por cinto e bainha, acessórios bastante úteis que permitem prescindir de auxílio para as tarefas de tricotomia e mensuração. As agulhas devem ser pequenas (3 a 4 mm) e finas ($\emptyset < 26$ G). Seringas e agulhas precisam estar limpas e esterilizadas antes do uso. É importante que agulhas e seringas estejam livres de desinfetantes e anti-sépticos. Uma pequena quantidade de vaselina líquida é suficiente para a lubrificação do êmbolo. O cutímetro equipado com cabo facilita o manuseio do instrumento, e a mola fornece pressão regular nas medidas. A ponta do cutímetro mais larga evita aprofundamento indevido, principalmente em medidas de reações edematosas. Os locais de inoculação no bovino devem ter o pêlo raspado com lâmina de barbear simples ou máquina de tosquiar.

Métodos de Tuberculinização

Para o diagnóstico de rotina da tuberculose bovina, a tuberculinização é um método rápido, seguro e econômico e serve para pesquisar a sensibilidade dos animais às tubérculo-proteínas específicas. O método preconizado é o intradérmico nas suas três modalidades, ou seja, prega caudal, cervical simples e comparativo.

O teste da prega caudal é o método de execução mais simples e prático e, portanto, quando há necessidade da realização de um teste de triagem, é a escolha natural. É importante lembrar que, pela legislação, esse teste é admitido para utilização de rotina, exclusivamente em estabelecimentos de criação especializados na pecuária de corte.

Considera-se que a sensibilidade do teste cervical simples é maior do que a do teste da prega da cauda. Além disso, é menos subjetivo, pois o resultado advém da tomada de medidas com o cutímetro.

O teste cervical comparativo, com PPD bovino e aviário aplicados simultaneamente, deve ser utilizado como teste confirmatório, por sua maior especificidade em relação aos testes simples. Esse teste permite eliminar a maior causa de reações falso-positivas, que são as infecções por micobactérias ambientais. Esse deve ser o teste de eleição para rebanhos com alta frequência de reações inespecíficas, evitando-se os prejuízos decorrentes da eliminação de animais falso-positivos.

Cuidados na Tuberculinização de Rebanhos

A realização de testes tuberculínicos em rebanho requer os seguintes cuidados especiais:

- as tuberculinas precisam ser mantidas sob refrigeração (2° a 8° C), evitando-se o seu congelamento;
- os animais a serem tuberculinizados deverão estar devidamente contidos e identificados;
- a inoculação intradérmica da tuberculina só é perfeita quando há formação de uma pápula;

- animais infectados há menos de 40 dias podem não responder aos testes tuberculínicos;
- novo teste tuberculínico só deverá ser realizado após um período mínimo de 60 dias;
- a intensidade da reação alérgica à tuberculina não é proporcional à evolução da doença no organismo do animal;
- um único teste tuberculínico não garante ausência de infecção;
- a observação cuidadosa do rebanho, de preferência após movimentação, pode permitir a individualização de animais com os seguintes sintomas: tosse crônica, dificuldade respiratória, problemas digestivos e timpanismo, claudicação; sinais clínicos que podem estar presentes em animais anérgicos à tuberculinização;
- na anamnese de rebanhos infectados deve ser levada em consideração a possível existência de portadores da infecção entre os tratadores, os gatos e cães da propriedade;
- os animais reagentes têm que ser isolados e sacrificados ou destruídos;
- os funcionários da propriedade precisam ser submetidos periodicamente a exames médicos;
- em rebanho com tuberculose, as pessoas que lidam com os animais devem ser encaminhadas para exame médico;
- as fêmeas que estiverem no período compreendido entre 15 dias antes e 15 dias depois do parto, não devem ser submetidas ao teste tuberculínico, pois podem apresentar-se menos reativas nesse período.

Novos Métodos de Diagnóstico da Tuberculose Bovina

Nos últimos anos, os avanços da biologia molecular e a evolução dos conhecimentos sobre a imunidade contra as micobactérias levaram ao aparecimento de novos métodos diretos e indiretos para o diagnóstico da tuberculose bovina.

Dentro dos métodos indiretos surgiram novos testes sorológicos, que visam detectar alterações dos componentes séricos na resposta à infecção pelo *M. bovis*, e métodos de avaliação *in vitro* da resposta imunológica celular contra o *M. bovis*.

O desenvolvimento de um método para a detecção de interferon gama após estimulação do sangue total com PPD mostrou-se muito útil e específico para detectar animais tuberculosos, e vem sendo empregado como teste complementar da tuberculinização em alguns países, como Austrália e Nova Zelândia.

Os métodos diretos passaram por uma verdadeira revolução em virtude do desenvolvimento do método molecular denominado reação da polimerase em cadeia (PCR), que tem como princípio básico a detecção de um fragmento de DNA específico do gênero ou então do complexo *M. tuberculosis*. Métodos de biologia molecular estão sendo desenvolvidos para detectar diretamente o agente em amostras clínicas, para identificar o agente isolado pelos métodos clássicos de bacteriologia e para avaliar a variação genética dentro de uma espécie de micobactéria.

As técnicas moleculares já encontram alguma aplicação prática dentro dos programas de controle e erradicação da tuberculose bovina, sendo utilizadas de forma complementar aos procedimentos bacteriológicos clássicos.

Quanto aos métodos indiretos, nenhum novo método apresentou desempenho que justificasse a substituição dos testes tuberculínicos padrões.

Controle da Tuberculose

O controle da tuberculose fundamenta-se no bloqueio de pontos críticos da cadeia de transmissão da doença.

O primeiro passo a ser dado em uma unidade de criação é conhecer a situação sanitária do rebanho. A identificação das fontes de infecção é feita por meio da implementação de uma rotina de

testes tuberculínicos com abate dos animais reagentes. O exame clínico pode ser útil nos casos de anergia. Na compra de animais, antes da introdução no rebanho, deve-se testá-los na origem e testá-los de novo logo após a entrada no quarentenário da unidade de criação, respeitando-se o intervalo mínimo de 60 dias entre os testes. Adotar como regra a aquisição de animais de propriedades livres da doença. O risco de infecção é menor em rebanhos fechados.

É importante que a saúde dos trabalhadores da propriedade seja rotineiramente monitorada. Ações sobre possíveis reservatórios domésticos, sinantrópicos ou silvestres devem ser consideradas.

Instalações adequadas, que permitem boa ventilação e exposição direta à luz solar, contribuem para prevenir a contaminação do ambiente. Recomenda-se higienizar e desinfetar periodicamente todas as instalações, especialmente os bebedouros e os cochos (hipoclorito de sódio 5%, fenol 5%, formaldeído 3%, cresol 5%).

Deve-se abolir a utilização do leite de vacas reagentes para qualquer finalidade, e em quaisquer circunstâncias.

Constituem medidas importantes o monitoramento dos rebanhos pela detecção de lesões tuberculosas – realizado pelo serviço de inspeção de carcaças quando do abate dos animais –, e o controle de trânsito e de participação em exposições, feiras e leilões.

A inspeção sanitária dos produtos de origem animal destinados ao consumo humano e a pasteurização ou esterilização do leite e derivados diminuem os riscos de transmissão do *M. bovis* ao homem.

Apesar de diversos estudos sobre vacinação e tratamento da tuberculose bovina, até o presente, os resultados obtidos não justificam a adoção dessas medidas como forma de controle da enfermidade. Além disso, em países que alcançaram grande sucesso com programas implementados para o combate à tuberculose bovina, essas práticas não foram utilizadas; e, portanto, não estão contempladas na estratégia de ação do PNCEBT.

Tuberculose Humana de Origem Bovina

Bovinos infectados podem ser responsáveis por parte dos casos de tuberculose humana causada pelo *M. bovis*, principalmente em áreas de alta prevalência de infecção e onde não existe controle sanitário dos produtos de origem animal. O homem adquire a doença por meio da ingestão de leite e derivados crus oriundos de vacas infectadas. O risco é maior para crianças, idosos e pessoas com deficiência imunológica, nas quais ocorrem principalmente as formas extrapulmonares. Os tratadores de rebanhos infectados e os trabalhadores da indústria de carnes constituem os grupos ocupacionais mais expostos à doença. Nesses grupos, a principal forma clínica observada é a pulmonar.

A incidência da tuberculose humana de origem animal tem diminuído nos países onde existem campanhas de combate à tuberculose bovina e a pasteurização do leite é obrigatória. Atualmente, nos países anglo-saxônicos, a incidência da infecção humana por *M. bovis* é baixa e limitada a um grupo de idade mais avançada. Na Grã-Bretanha, apesar da redução da infecção humana por cepas bovinas, a tuberculose dessa origem continua ocorrendo.

Convém observar que, no ser humano, o exame clínico e a baciloscopia do escarro não permitem a diferenciação entre a infecção pelo *M. bovis* e *M. tuberculosis*. Essa distinção só é possível pelo isolamento e pela identificação do agente.

Bibliografia

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

BERRADA, J.; BARAJAS-ROJAS, J.A. Control of bovine tuberculosis in developing countries. In: THOEN, C. O.; STEELE, J. H. (Eds.). *Mycobacterium bovis infection in animals and humans*. Ames: Iowa State University, 1995.

BROLIO R.; LIMA FILHO, M.T. Tuberculose pulmonar. In: VERONESI, R. *Doenças infecciosas e parasitárias*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976. p. 317-361.

BUDDLE, B.M.; ALDWELL, F.E.; PFEFER, G.W.; LISLE, G.W.; CORNER, L.A. Experimental *Mycobacterium bovis* infection of cattle: effect of dose of *M. bovis* and pregnancy on immune responses and distribution of lesions. *New Zealand Veterinary Journal*, v. 42, p. 167-172, 1994.

CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. *Bacteriología de la tuberculosis*. Buenos Aires, 1988.

CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. *Preparación estandarización de tuberculinas PPD*. Buenos Aires, 1980. (NT n-17, Rev1)

COLLINS, D.M.; RADFORD, A.J.; LISLE, G.W.; BILLMAN-JACOB, H. Diagnosis and epidemiology of bovine tuberculosis using molecular biological approaches. *Veterinary Microbiology*, v. 40, p. 83-94, 1994.

CORNER, L.A. Post mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Veterinary Microbiology*, v. 40, p. 53-63, 1994.

COSIVI, O.; GRANGE, J.M.; DABORN, C.J.; RAVIGLIONE, M.C.; FUJIKURA, T.; COUSINS, D.; ROBINSON, R.A.; HUCHZERMAYER, H.F.A.K.; DE KANTOR, I.; MESLIN, F.X. Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. *Emerging Infectious Diseases*, v. 4, p. 59-70, 1998.

COUSINS, D.V., WILTON, S.D., FRANCIS, B.R. Use of DNA amplification for the rapid identification of *Mycobacterium bovis*. *Veterinary Microbiology*, v. 27, p. 187-195, 1991.

DOHERTY, M.L.; MONAGHAM, M.L.; BASSET, H.F.; QUINN, P.J. Effect of a recent injection of purified protein derivative on diagnostic tests for tuberculosis in cattle infected with *Mycobacterium bovis*. *Research in Veterinary Science*, v. 58, p. 217-221, 1995.

DOHERTY, M.L.; BASSET, H.F.; QUINN, P.J.; DAVIS, W.C.; KELLY, A.P.; MONAGHAM, M.L. A sequential study of the bovine tuberculin reaction. *Immunology*, v. 87, p. 9-14, 1996a.

DOHERTY, M.L.; MONAGHAM, M.L.; BASSET, H.F.; QUINN, P.J.; DAVIS, W.C. Effect of dietary restriction on cell-mediated immune responses in cattle infected with *Mycobacterium bovis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 49, p. 307-320, 1996b.

HERNANDEZ, J.; BACA, D. Effect of tuberculosis on milk production in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 213, p. 851-854, 1998.

LAGE, A.P.; LOBATO, F.C.F.; MOTA, P.M.P.C.; GONÇALVES, V.S.P. *Atualização em tuberculose bovina*. Belo Horizonte: FEP/MVZ, 1998.

LANGENEGGER, J.; LANGENEGGER, C.H.; MOTA, P.M.P.C.; LEITE, R.C. Reações inespecíficas no diagnóstico alérgico da tuberculose bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 4, n. 1, p. 145-149, 1981.

LILENBAUM, W.; SCHTTINI, J.C.; SOUZA, G.N.; RIBEIRO, E.R.; MOREIRA, E.C.; FONSECA, L.S. Comparison between a γ -INF assay and intradermal tuberculin test for the diagnosis of bovine tuberculosis in field trials in Brazil. *Journal of Veterinary Medicine B.*, n. 46, p. 353-358, 1999.

MONAGHAM, M.L.; DOHERTY, M.L.; COLLINS, J.D.; KAZDA, J.F.; QUINN, P.J. The tuberculin test. *Veterinary Microbiology*, v. 40, p. 111-124, 1994.

MORRIS, R.S.; PFEIFFER, D.U.; JACKSON, R. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. *Veterinary Microbiology*, v. 40, p. 153-177, 1994.

MOTA, P.M.P.C. *Estudo de esofagostomose como fator predisponente de reações alérgicas inespecíficas da tuberculose bovina*. Belo Horizonte, 1985. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.

MOTA, P.M.P.C.; NAKAJIMA, M. Tuberculose bovina. In: CHARLES, T.P.; FURLONG, J. *Doenças dos bovinos de leite adultos*. Coronel Pacheco: EMBRAPA - CNPGL, 1992. p. 96-122.

O'REILLY, L.M.; DABORN, C. J. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tubercle and Lung Disease*, v. 76, p. 1-46, 1995.

O'HAAGSMA, J. Bovine tuberculosis. In: OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. *Manual of standards for diagnostic tests and vaccines*. 4. ed. Paris: Office International des Epizooties, 2000. p. 359 – 370.

PLACKETT, P.; RIPPER, J.; CORNER, L.A; SMALL, K.; WITTE, K.; MELVILLE, L.; HIDES, S.; WOOD, P.R. An ELISA for the detection in anergic tuberculous cattle. *Australian Veterinary Journal*, v. 66, p. 15-19, 1989.

PRITCHARD, D.G. A century of bovine tuberculosis 1888-1988: conquest and controversy. *Journal of Comparative Pathology*; v. 99, p. 357-399, 1988.

RADUNZ, B.L.; LEPPER, A.W.D. Suppression of reactivity to tuberculin in repeat tests. *Australian Veterinary Journal*, v. 62, p. 191-194, 1985.

RUSSEL, 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. (WHO/VPH/84.4)

THOEN, C.O.; STEELE, J.H. (Eds). *Mycobacterium bovis infection in animals and humans*. Ames: Iowa State University, 1995.

THOEN, C.O.; BLOOM, B.R. Pathogenesis of *Mycobacterium bovis*. In: THOEN, C. O. ; STEELE, J. H. (Eds). *Mycobacterium bovis infection in animals and humans*. Ames: Iowa State University, 1995. p. 3-14.

TOOSSI, Z.; ELLNER, J.J. Mechanisms of anergy in tuberculosis. In: SHINNICK, T.M. *Tuberculosis*. Berlin: Springer-Verlag. 1996. cap. 10, p. 221-238.

VAN EMBDEN, J.D.A.; SCHOOLS, L.M.; VAN SOOLINGEN, D. Molecular techniques: applications in epidemiologic studies. In: THOEN, C. O. ; STEELE, J.H. (Eds). *Mycobacterium bovis infection in animals and humans*. Ames: Iowa State University, 1995. p.15-27.

WARDS, B.J.; COLLINS, D.M.; LISLE, G.W. Detection of *Mycobacterium bovis* by polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, v. 43, p. 227-240, 1995.

WOOD, P.R.; ROTHEL, K.L. In vitro immunodiagnostic assays for bovine tuberculosis. *Veterinary Microbiology*, v. 40, p. 125-135, 1994.

WOOD, P.R.; JONES, S.L.; BOVIGAM, T.M. An *in vitro* cellular diagnostic test for bovine tuberculosis. *Tuberculosis*, v. 81, p. 147-155, 2001.

PROPRIEDADES DOS TESTES DE DIAGNÓSTICO E IMPLICAÇÕES NO DELINEAMENTO DE ESTRATÉGIAS SANITÁRIAS

O Caso dos Programas de Controle da Brucelose e da Tuberculose

Os planos de combate à tuberculose e à brucelose envolvem ações de profilaxia sanitária que dependem da utilização de testes para diagnóstico indireto. Entre elas destacam-se:

- detecção de rebanhos infectados mediante realização de testes periódicos;
- saneamento de rebanhos infectados, com a realização de testes sistemáticos e sacrifício dos animais reagentes;
- proteção de rebanhos não infectados, comprovando a condição sanitária de animais que ingressam no plantel indene, por meio de testes de diagnóstico realizados na origem e durante a quarentena no destino;
- comprovação da condição de rebanho ou de zona livre, mediante a realização de testes periódicos.

Assim, o controle e a erradicação dessas doenças dependem em grande medida da correta utilização e interpretação de testes diagnósticos. Como esses testes nunca são perfeitos, torna-se necessário avaliar a probabilidade de acerto do diagnóstico.

O desempenho de um teste pode ser avaliado por características intrínsecas, como sensibilidade e especificidade, e por características extrínsecas, como os valores preditivos positivo e negativo.

O quadro abaixo mostra um exemplo hipotético de aplicação de um teste diagnóstico.

		INFECCÃO		Total
		Infectado	Não Infectado	
TESTE	Positivo (+)	45 (a)	38 (b)	83
	Negativo (-)	5 (c)	912 (d)	917
Total		50	950	1000 (N)

Sensibilidade (SEN) é a probabilidade de um animal infectado ser classificado como positivo pelo teste de diagnóstico. Testes de baixa sensibilidade resultam em maior número de animais falso-negativos. Considerando o exemplo que se apresenta no quadro acima, teríamos $SEN = [a/(a+c)] = 45/50 = 0,90$ ou 90%, ou seja, a cada 100 animais infectados, o teste classificaria 90 como positivos e 10 como negativos (falso-negativos).

Especificidade (ESP) é a probabilidade de um animal não infectado ter resultado negativo no teste de diagnóstico. Testes de baixa especificidade resultam em maior número de falso-positivos. Nesse caso, teríamos $ESP = [d/(b+d)] = 912/950 = 0,96$ ou 96%, isto é, a cada 100 animais não infectados, o teste classificaria 96 como negativos e 4 como positivos (falso-positivos).

Nos testes indiretos quantitativos, existe sempre um ponto de corte, ou seja, um determinado título de anticorpos (na brucelose) ou um aumento da espessura da dobra da pele na reação cutânea de hipersensibilidade retardada (na tuberculose), a partir do qual o teste é considerado positivo. Os valores de SEN e ESP de um determinado teste dependem do ponto de corte e estão inversamente relacionados. Se o ponto de corte do teste diagnóstico for modificado para aumentar a sensibilidade, a especificidade diminuirá. De maneira inversa, se o ponto de corte do teste diagnóstico for modificado para elevar a especificidade, haverá perda de sensibilidade.

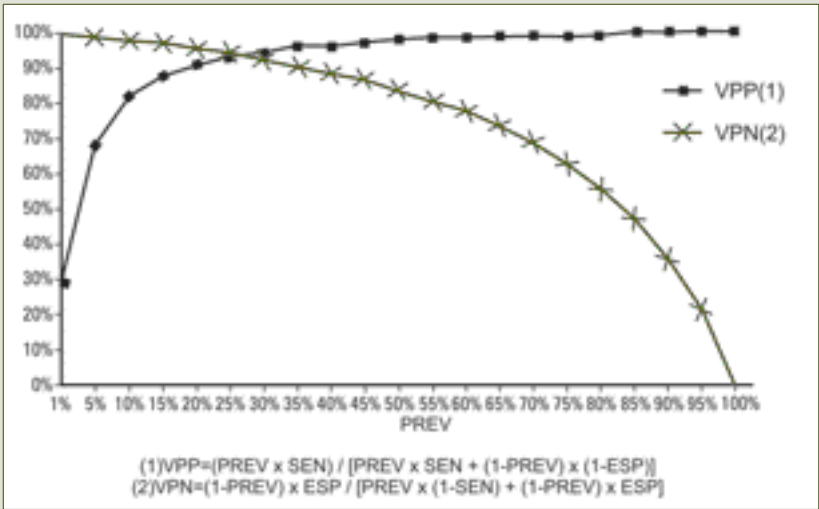
Em situações reais, o verdadeiro estado sanitário do animal (isto é, infectado ou não) não é conhecido; é conhecido apenas o

resultado do teste. Por essa razão, é importante saber a proporção de animais com resultado positivo que realmente estão infectados – valor preditivo positivo (VPP) – e a proporção de animais com resultado negativo que não estão infectados, valor preditivo negativo (VPN).

Nesse caso, teríamos $VPP = [a/(a+b)] = 45/83 = 0,54 = 54\%$, ou seja, a cada 100 animais positivos no teste, 54 estão realmente infectados. Estes valores são indicativos da confiança que temos de que um resultado negativo corresponde a um animal não infectado (VPN) e de que um resultado positivo é de um animal infectado (VPP). O VPN seria igual a $[d/(c+d)] = 912/917 = 0,995$ ou 99,5%, o que significa que 99,5% dos animais negativos não estão infectados.

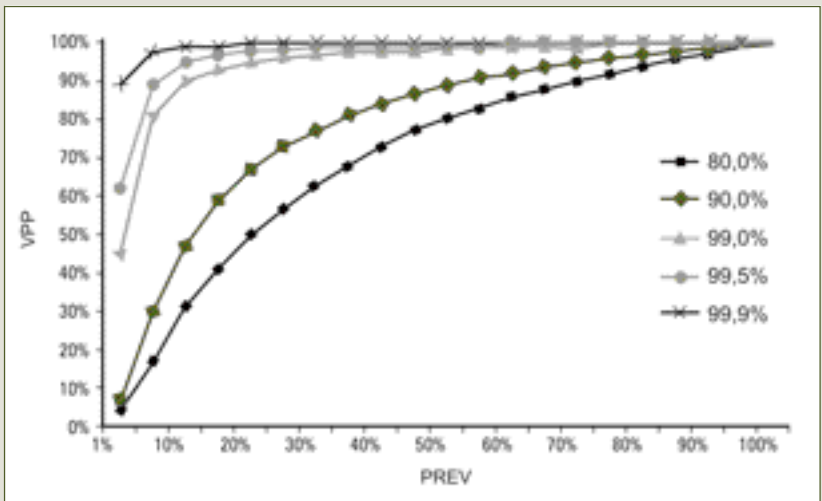
Os valores preditivos são determinados pelos valores de SEN e ESP do teste utilizado e pela **prevalência** da doença na população submetida ao diagnóstico, ou seja, variam em função da situação epidemiológica, como ilustra o exemplo da Figura 1.

Figura 1 – Efeito da variação de prevalência (PREV), entre 1% e 100%, sobre os valores preditivos positivo (VPP) e negativo (VPN) de um teste de diagnóstico com sensibilidade (SEN) de 80% e especificidade (ESP) de 99%



Quando a prevalência da enfermidade é inferior a 10%, o VPN de um teste de sensibilidade apenas moderada (80%) é muito alto e tende a aumentar à medida que a prevalência da doença diminui. O VPP segue trajetória inversa, sendo muito baixo quando a prevalência é inferior a 10%, diminuindo ainda mais à medida que a prevalência da doença também diminui. Em consequência, num programa de erradicação baseado em teste e sacrifício de animais, a proporção de animais com reações falso-positivas que são sacrificados aumenta à medida que a campanha avança e a prevalência da enfermidade diminui. Portanto, quando a prevalência da doença diminui, cresce a necessidade de diminuir a proporção de reações falso-positivas, o que é conseguido por meio de ganhos em especificidade dos métodos diagnósticos. A interação da especificidade do teste com a prevalência da doença na determinação do VPP é ilustrada na Figura 2.

Figura 2 – Efeito de diferentes valores de especificidade (ESP), entre 80,0% e 99,9%, sobre o valor preditivo positivo (VPP) de vários testes diagnósticos, assumindo que todos teriam sensibilidade (SEN) de 80%, para valores de prevalência (PREV) entre 1% e 100%



A proporção de falso-positivos é bastante influenciada pela especificidade do teste utilizado, qualquer que seja a prevalência da doença (Figura 2). Para valores de prevalência muito baixos, mesmo um teste de boa especificidade (99%) resulta em alta proporção de falso-positivos. Assim sendo, quando o diagnóstico é feito em populações de baixa prevalência, deve ser utilizado um teste de especificidade próxima a 100%. Se não houver um único teste com essa característica, poderão ser empregados dois testes em seqüência; o primeiro teste, ou de triagem, serve para detectar animais reagentes, os quais são submetidos a novo teste para diagnóstico confirmatório. O teste de triagem precisa ter boa sensibilidade, ser barato e de fácil execução. O teste confirmatório deve ter especificidade muito alta e também boa sensibilidade. A realização de testes em seqüência, quando se faz o teste confirmatório nos indivíduos reagentes ao teste de triagem, aumenta a especificidade do procedimento diagnóstico e diminui o número de falso-positivos.

Com esse objetivo, no controle da brucelose, utiliza-se o teste do Antígeno Acidificado Tamponado como teste de triagem, seguido de teste confirmatório (2-Mercaptoetanol ou Fixação de Complemento) nos animais reagentes. No controle da tuberculose, o Teste na Prega Ano-caudal, com PPD bovina, pode ser utilizado para triagem, seguido de Tuberculinização Comparativa, com PPD bovino e aviário, nos animais reagentes.

Uma vez confirmada a condição de foco de um rebanho, é necessário eliminar todos os animais infectados. A experiência mostra que esse processo é mais difícil em rebanhos grandes do que em rebanhos pequenos, dado que, quanto maior for o número de animais infectados, maior será o risco de não detectar todos eles com apenas um teste. Por exemplo: com uma SEN individual de 95% (muito boa), esse risco será de 5% se houver apenas um animal infectado; de 10% se houver dois animais infectados e de 40% se houver 10 animais infectados. Tal evidência fundamentou a decisão de alguns países, como os EUA, de sacrificar todos os

animais quando uma grande parte do rebanho estivesse infectada. Uma alternativa menos radical consiste em realizar testes sistemáticos em todo o rebanho, com intervalos periódicos, até que não exista mais nenhum animal positivo. O saneamento será mais rápido e eficaz se forem utilizados testes de boa sensibilidade, repetidos ao longo do tempo.

Em programas de erradicação da tuberculose bovina, quando a prevalência da enfermidade e o VPP são muito baixos, a vigilância epidemiológica em locais de abate assume papel mais importante do que o teste sistemático de animais na propriedade. Em alguns países que atingiram prevalência muito baixa (EUA, Austrália e Uruguai), a vigilância nos matadouros foi o principal meio de detecção de novos casos de tuberculose. Quando se descobre um caso de tuberculose na inspeção de carnes, o serviço de defesa sanitária animal realiza uma investigação na propriedade de origem do animal afetado. Trata-se de uma estratégia que tem sido bem sucedida. Todavia, alguns aspectos devem ser realçados:

1) quando a prevalência é baixa, o VPP da inspeção visual é igualmente baixo (muitas lesões não são tuberculosas) e, portanto, as lesões devem ser enviadas para exame histopatológico e/ou microbiológico;

2) a SEN da inspeção de rotina é baixa (de acordo com alguns autores, varia entre 33% e 67%), uma vez que muitos animais têm apenas uma única lesão, de difícil detecção;

3) a vigilância epidemiológica em matadouros só pode substituir o teste de tuberculinização sistemática quando todos os animais da população sob vigilância são abatidos em estabelecimentos com inspeção veterinária.

Conclusão

O combate às doenças dos animais exige que os veterinários que dele participam saibam interpretar os resultados dos testes de triagem e/ou confirmatórios, em função do contexto epidemiológico e dos objetivos do diagnóstico. Não existem testes perfeitos, e o diagnóstico terá sempre uma margem de erro. O bom conhecimento das propriedades dos testes permite aumentar a probabilidade de acerto e melhorar a eficácia das ações sanitárias. Não existem receitas aplicáveis a qualquer situação nem testes infalíveis; existem, sim, princípios epidemiológicos que não só devem ser compreendidos, como também adaptados a situações diversas.

Bibliografia

BARLOW, N.D.; KEAN, J.M.; HICKLING, G.; LIVINGSTONE, P.G.; ROBSON, A.B. A simulation model for the spread of bovine tuberculosis within New Zealand cattle herds. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 32, p. 57-75, 1997.

BENET, J.J. Qualité des tests. Application a un exemple: la tuberculose bovine. *Epidemiologie et Santé Animale*, v. 17, p. 41-56, 1990.

BENET, J.J. Epidemiologie de la tuberculose bovine en France: état des connaissances et perspectives. *Le Point Veterinaire*, v. 26, p. 13-26, 1994.

CAFREY J.P. Status of bovine tuberculosis eradication programmes in Europe. *Veterinary Microbiology*, v. 40, p. 1-4, 1994.

CORNER, L.A.; MELVILLE, L.; McCUBBIN, K.; SMALL, K.J.; McCORMICK, B.S.; WOOD, P.R.; ROTHEL, J.S. Efficiency of inspection procedures for the detection of tuberculous lesions in cattle. *Australian Veterinary Journal*, v. 67, p. 389-392, 1990.

- CORNER, L.A. Post mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Veterinary Microbiology*, v. 40, p. 53-63, 1994.
- COSTELLO, E.; EGAN, J.W.A.; QUIGLEY, F.C.; O'RILEY, P.F. Performance of the single intradermal comparative tuberculin test in identifying cattle with tuberculous lesions in Irish herds. *Veterinary Record*, v. 141, p. 222-224, 1997.
- De KANTOR, I.N.; NADER, A. BERNARDELLI, A.; GIRON, D.O.; MAN, E. Tuberculous infection in cattle not detected by slaughterhouse inspection. *Journal of Veterinary Medicine B*, v. 34, p. 202-205, 1987.
- ESSEY, M.A.; KOLLER, M.A. Status of bovine tuberculosis in North America. *Veterinary Microbiology*, v. 40, p. 15-22, 1994.
- MEDRONHO, R.A.; CARVALHO, M.D.; BLOCH, K.V.; LUIZ, R.R.; WERNECK, G.L. *Epidemiologia*. São Paulo: Atheneu, 2002.
- MONAGHAN, M.L.; DOHERTY, M.L.; COLLINS, J.D.; KAZDA, J.F.; QUINN, P.J. The tuberculin test. *Veterinary Microbiology*, v. 40, p. 111-124, 1994.
- NOORDHUIZEN, J.P.T.M.; FRANKENA, K.; VAN DER HOOF, C.M.; GRAAT, E. *Application of quantitative methods in veterinary epidemiology*. The Netherlands: Wageningen Press, 1997.
- O'KEEFFE, J. A model of the effect of herd size on the outcome of the tuberculin test. Dublin: Tuberculosis Investigation Unit. University College Dublin, 1992. (Selected Papers).
- UNITED STATES OF AMERICA. *Livestock disease eradication: evaluation of the Cooperative State-Federal Bovine Tuberculosis Eradication Program*. Washington, D. C.: National Academy Press, 1994.

COLHEITA DE MATERIAL PARA EXAME LABORATORIAL

Convém salientar que manipular materiais infectados, ou potencialmente infectados, com *Brucella* sp. e *M. bovis* é perigoso, exigindo cuidados especiais, uma vez que a sua manipulação é uma das importantes formas de transmissão da brucelose e tuberculose ao ser humano.

Equipamentos de proteção individual, como óculos de segurança, aventais de manga longa, luvas descartáveis e máscaras com filtros P-2 ou P-3, devem ser usados ao manipular material suspeito de conter *Brucella abortus* ou *Mycobacterium bovis*.

É imprescindível que todo material a ser colhido seja devidamente identificado e acondicionado, devendo ser conduzido ao laboratório acompanhado de uma ficha completa contendo o histórico do caso e o maior número possível de informações referentes a ele. Serão empregados recipientes resistentes e à prova de vazamentos. O material utilizado na colheita deve ser desinfectado ou destruído.

Exame Direto (bacteriológico)

O sucesso no cultivo bacteriológico de amostras de campo depende de uma série de fatores. A forma de colheita, o tipo de peça anatômica, a quantidade de material colhido, o acondicionamento, o transporte, o tempo após colheita e o tempo de estocagem constituem alguns dos fatores que interferem significativamente no resultado do diagnóstico laboratorial. Os materiais devem ser resfriados imediatamente após a colheita ou congelados, se demorarem mais de 12 horas em trânsito. Ao chegar

ao laboratório, devem ser congelados ou mantidos congelados se não forem processados logo em seguida.

Os materiais precisam ser acondicionados em frascos ou em sacos plásticos à prova de vazamentos e de tamanho apropriado, de modo a evitar excesso de ar, o que prejudica a refrigeração. Em lugar de frascos rígidos, devem ser preferidos sacos plásticos estéreis do tipo *whirl-pak*, que se adaptam ao tamanho e à forma dos órgãos coletados.

As peças (fragmentos de linfonodos ou órgãos) podem ser encaminhadas dentro de frascos de boca larga não estéreis; que devem, porém, estar limpos e secos, sem resíduos (por exemplo: sangue, fezes e outros), não ultrapassando mais da metade do recipiente de envase. As amostras, dentro dos recipientes, devem ser acondicionadas em sacos de polietileno (plásticos) transparentes e resistentes. Amostras de animais diferentes deverão ser acondicionadas em separado e devidamente identificadas. Podem ser utilizados frascos coletores universais.

Tuberculose

Em geral, as amostras de origem animal remetidas ao laboratório para diagnóstico de tuberculose são linfonodos ou partes de órgãos/tecidos procedentes de matadouro sob inspeção sanitária. São também provenientes de necropsias realizadas no estabelecimento de criação por um médico veterinário.

Para avaliar melhor as lesões dos órgãos e/ou dos tecidos, devem ser efetuados cortes durante a inspeção ou necropsia. Devem ser colhidos preferencialmente linfonodos do trato respiratório: mediastinais (anteriores, posteriores e ventrais), bronquiais (esquerdo, direito, dorsal ou médio) e pulmonares. Observar a pleura e o tecido pulmonar por palpação, a fim de constatar áreas com lesões nodulares. Observar presença de lesões tuberculosas nos linfonodos mesentéricos e lesões hepáticas. Deve-se inspecionar ainda os linfonodos da cabeça e os cervicais.

De preferência, colher os fragmentos logo após a morte do animal. Retirar somente a lesão de aspecto caseoso, evitando resíduos como, por exemplo, sangue e outros líquidos. É importante colher parte do tecido lesado e parte do tecido normal de uma mesma peça, perfazendo um total de até 200 gramas. Enviar também parte do material em solução de formol a 10% para exames histopatológicos.

Brucelose

O material ideal para o isolamento de *Brucella* sp é o proveniente do aborto. Entre os materiais de eleição destacam-se:

Feto e anexos fetais

O feto pode ser enviado inteiro, acondicionado em sacos plásticos duplos à prova de vazamentos. Se for mediante necropsia efetuada no próprio estabelecimento, colhe-se líquido do abomaso, pulmão, linfonodo bronquial, baço, fígado e suabe retal. No caso de membranas fetais, escolher aqueles cotilédones que apresentem aspecto anormal, com perda da cor e do brilho característico; eles deverão ser cuidadosamente manipulados (usar luvas e máscaras especiais com pelo menos 95% de eficiência) em função da alta concentração de bactérias presentes.

Exsudato vaginal

A eliminação de *B. abortus* pode durar várias semanas após o parto ou o aborto. O exsudato vaginal deve ser colhido mediante o uso de suabes especiais ou pipetas de inseminação. Existem suabes comerciais com meio de transporte que mantém as bactérias viáveis por períodos mais prolongados.

Leite

Antes da colheita, o úbere precisa ser cuidadosamente lavado e feita também a assepsia dos tetos. Colher em frascos esterilizados

cerca de 20 mL de leite de cada teta, desprezando-se os primeiros jatos. Enviar o quanto antes ao laboratório sob refrigeração (2° a 8°C) ou congelado (-20°C), caso permaneça mais de 12 horas em trânsito até o laboratório, para evitar a proliferação de contaminantes. Colher primeiro dos tetos que estão afastados do operador. Fazer a assepsia das mãos antes de realizar a colheita em outro animal.

Animais necropsiados ou colheita em matadouro

Os materiais de escolha são aqueles do sistema retículo-endotelial. Os linfonodos mais importantes são os supramamários, os parotídeos, os retrofaríngeos, os ilíacos internos e os pré-escapulares. Além deles, o baço, os cotilédones, o útero e o úbere são também importantes nas fêmeas. Nos machos, além dos linfonodos citados e do baço, são também importantes os testículos, a próstata, os epidídimos e as vesículas seminais.

Exame Histopatológico

Para o exame histopatológico, podem ser remetidas amostras dos mesmos linfonodos ou órgãos indicados na colheita para diagnóstico de brucelose ou tuberculose, com ou sem lesão macroscópica. Fragmentos em torno de 0,5 cm x 1,0 cm x 1,0 cm devem ser fixados em um volume 50 vezes maior de formol a 10% e enviados ao laboratório à temperatura ambiente. Esse material não deve ser congelado ou resfriado.

Exame Indireto (sorológico)

Sangue

A colheita de sangue para a obtenção de soro com o qual serão realizados os testes para o diagnóstico da brucelose, além de ser mais simples, oferece menos risco de contágio ao profissional, se comparada com a colheita de material para o exame bacteriológico.

O material preferencialmente utilizado para colher a amostra deve ser constituído de tubos que contêm vácuo (sem anticoagulante) e siliconizados, que facilitam a retração do coágulo, com agulhas individuais e descartáveis. Tubos e agulhas convencionais podem também ser utilizados; apresentam, porém, o inconveniente de necessitar de limpeza, de preparação e distribuição, além de acrescentarem risco biológico na manipulação.

As tarefas da colheita exigem o cumprimento de algumas normas, que podem ser assim resumidas:

- a amostra de sangue colhida deve cobrir no mínimo 50% da capacidade de um tubo de 10 mL;
- para se obter um bom soro, os tubos com sangue devem ser mantidos à temperatura ambiente por, no mínimo, 2 ou 3 horas, ao abrigo da luz, até que ocorra a coagulação sangüínea. Após a separação do coágulo, transferir o soro para um frasco limpo e seco. Não usar frascos ou tubos úmidos, porque podem hemolisar o sangue;
- os frascos contendo o soro deverão ser enviados o quanto antes ao laboratório e em horário de recepção previamente estabelecido; evita-se, assim, a deterioração do material. Caso sejam enviados ao laboratório em algumas horas, deverão ser refrigerados, ou congelados;
- os tubos serão identificados de tal forma que o número corresponda ao especificado na folha de campo;
- nas folhas de campo constarão somente os dados estritamente necessários, tais como nome do proprietário, número de animais na propriedade, número total de amostras colhidas, espécie, sexo, situação relativa à vacinação (data da vacinação), e outros dados considerados de interesse diagnóstico.

Leite (para o Teste do Anel em Leite)

A correta colheita da amostra é fundamental para a obtenção de resultados confiáveis. As amostras para a realização desse teste devem ser colhidas de mistura de leite em latão, no máximo de

três latões, ou em tanque, no máximo de um. Misturar o leite para que o creme não se separe e esteja bem homogêneo. Colher o leite utilizando como conservante o formol a 1%, ou o cloreto de mercúrio a 2%, na proporção de 1 mL de conservante para cada 10 mL de leite. O leite deve ser refrigerado e enviado ao laboratório.

A prova pode ser influenciada pelos seguintes fatores:

- amostra de leite mal homogeneizada, contendo excesso ou falta de gordura;
- agitação excessiva;
- aquecimento excessivo. Acima de 45°C e durante cinco minutos, há uma queda acentuada de anticorpos;
- excessivo tempo e temperatura de armazenamento. Amostras armazenadas a 4°C, durante até duas semanas, podem ser usadas para o teste, já que não se produzem perdas nos títulos de anticorpos, sucedendo o contrário com o aumento de temperatura.

A prova pode apresentar resultados falso-positivos nas seguintes situações:

- utilização de leite fresco, ou seja, quando o teste é realizado no mesmo dia da colheita. Em geral, essa situação desaparece depois da refrigeração do leite;
- alteração do leite como consequência de mamites que dão origem à presença de proteínas, células e bactérias não habituais, que dificultam a leitura da prova;
- presença de colostro.

A agitação suave do leite no recipiente de colheita é imprescindível para uma boa homogeneização da gordura.

Identificação e Encaminhamento do Material de Necropsia

Após o acondicionamento do material no recipiente de envase, deve-se identificá-lo com uma etiqueta (ver modelo de Etiqueta 1) e acomodá-lo em um saco plástico, evitando o contato direto da etiqueta com o material refrigerante (o que poderia danificá-la, tornando impossível a identificação). Uma vez acondicionada e identificada, a amostra deverá ser remetida ao laboratório o mais rápido possível e em recipiente isotérmico (isopor) com gelo (preferencialmente os recicláveis). Na parte externa do recipiente isotérmico afixar o endereço do laboratório (ver modelo de Etiqueta 2). Caso não seja possível o envio imediato, a amostra poderá ser congelada e encaminhada posteriormente.

Modelo de Etiqueta 1 – Identificação do material de necropsia

A etiqueta deverá ser elaborada pelo próprio responsável pela colheita, contendo os dados do modelo abaixo:

Origem: _____

SIF: _____ Data da colheita ____ / ____ / ____

Lacre: _____

Material enviado: _____

Responsável pela colheita: _____

Modelo de Etiqueta 2 – Endereço do laboratório

(Nome do laboratório ao qual está sendo enviado o material)
Endereço: _____
Município: _____ UF: _____
CEP: _____
Telefone: () _____ Fax: () _____
E-mail: _____

MAPA/Manual do PNCEBT /2005

Preenchimento do Formulário de Encaminhamento de Amostras para Diagnóstico

Os formulários (ver modelos de Formulários 1 e 2) deverão ser corretamente preenchidos e encaminhados juntamente com as amostras. ESSES FORMULÁRIOS NÃO DEVERÃO SER ACONDICIONADOS NO INTERIOR DO RECIPIENTE ISOTÉRMICO EM QUE SE ENCONTRA A AMOSTRA.

Modelo de Formulário 1 – Encaminhamento de amostras para diagnóstico de brucelose

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 vacinado: () Sim Data: ___ / ___ / ___
() Não
() Não se sabe
5. Abortos na propriedade: () Sim () Não () Não se sabe
6. Testes sorológicos: () Sim Quando: ___ / ___ / ___ Quais: _____
() Não
() Não se sabe
7. Resultado da sorologia: _____
8. Histórico: _____
9. Destino da carcaça: () condenação total () condenação parcial
() destruição na propriedade
10. Peça(s) anatômica(s) enviada(s) ao laboratório: _____
11. Nº Lacre: _____
12. Responsável pela colheita: _____ CRMV: _____
13. Data da colheita: ___ / ___ / ___
14. Encaminhamento ao laboratório: () Congelada () Resfriada

Obs: _____

Modelo Formulário 2 – 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
- Obs: _____

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

PROTOCOLO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

Diagnóstico Sorológico

O diagnóstico sorológico da brucelose bovina e bubalina será feito por médico veterinário habilitado, bem como por laboratórios credenciados.

Antígenos

Deverão ser utilizados somente aqueles aprovados e controlados pelo MAPA. Os antígenos deverão ser transportados e conservados em temperatura de, no mínimo, +2°C e de, no máximo, +8°C, bem como protegidos da luz solar direta.

Identificação dos Animais

Os animais serão identificados individualmente, quer por tatuagem, quer por outra forma, inclusive pelo Registro Genealógico; poderão também ser identificados pelo método definido para o programa de rastreabilidade do MAPA.

Testes

Teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT)

Material

- Antígeno para AAT
- Soros a testar
- Pipetas de Bang
- Micropipetador de 30 μ L ou de volume ajustável
- Ponteiras
- Placas com quadrados de 4 cm delimitados

- Misturadores de plástico ou de metal
- Caixa com luz indireta para leitura
- Soro controle positivo
- Soro controle negativo
- Agitador de placas (opcional)

Precauções na execução do teste

1) O antígeno, quando não estiver em uso, precisa permanecer sempre entre 2°C e 8°C. Em caso de sua utilização para realizar um pequeno número de testes, dividi-lo em alíquotas e retirar da geladeira apenas a quantidade a ser utilizada a cada dia, evitando, assim, a perda de sensibilidade pelo constante resfriamento/aquecimento do antígeno.

2) A temperatura de execução desejável será em torno de 22°C ± 4°C, devendo-se evitar temperaturas muito abaixo ou muito acima desse valor.

3) As placas, os misturadores e as pipetas devem ser limpos com água corrente logo após o uso. Imergi-los em uma solução de detergente neutro por duas horas ou, de preferência, durante a noite. Em seguida, lavá-los em água corrente e, na seqüência, em água destilada. Secar em estufa ou à temperatura ambiente.

4) Antes de utilizar os misturadores nos próximos soros a serem testados, limpá-los em água destilada e enxugá-los em papel toalha.

5) Soros excessivamente hemolisados devem ser desprezados, porque podem apresentar resultados falso-positivos.

6) Em todos os testes devem ser simultaneamente testados soros controle positivo e negativo.

Técnica

1) Equilibrar os soros e o antígeno à temperatura ambiente, por, pelo menos, 30 minutos. Caso os soros estejam congelados, o período de equilíbrio à temperatura ambiente deve ser maior. Homogeneizar os soros antes de realizar a prova.

2) Preencher os protocolos de prova, identificando a localização de cada soro.

3) Ao utilizar o micropipetador de 30 μL ou a pipeta de Bang dotada de uma p era de borracha, ou outro dispositivo de pipetagem que evite o uso da boca, dispensar 30 μL (ou da marca de 0,04 até 0,01 na pipeta de Bang) de soro por área da placa; depositar essa quantidade sobre a placa de vidro, encostando nela a ponta da pipeta em ângulo de 45 .

4) Agitar suavemente o antígeno e colocar uma gota (30 μL) ao lado do soro, sem ser nele misturado.

5) Misturar, por meio de misturador simples ou múltiplo, o soro e o antígeno com movimentos circulares, de modo a obter um círculo aproximado de 2 cm.

6) Agitar a placa com movimentos oscilatórios, numa freq ncia de, aproximadamente, 30 movimentos por minuto, de modo a permitir que a mistura soro-antígeno flua lentamente dentro de cada círculo; a placa deve ser agitada continuamente por 4 minutos.

7) Colocar a placa na caixa de leitura com luz indireta e realizar a leitura.

8) Anotar os resultados.

9) Desconsiderar as reaq es de aglutinaaq o que ocorrerem após os 4 minutos.

Interpretaaq o dos resultados

Presenqa de grumos – **REAGENTE**

Ausência de grumos – **NÃO REAGENTE**

Teste do Anel em Leite (TAL)

Material

- Antígeno para TAL
- Amostras do leite a ser testado
- Tubos de 10 mm x 75 mm ou 10 mm x 100 mm
- Grade para tubos

- Pipetas de 1 mL
- Micropipetador calibrado para 30 μ L
- Estufa ou banho-maria a 37°C

Precauções na execução do teste

1) As amostras para realizar o teste devem ser colhidas de mistura de leite em latão, no máximo de três latões por amostra, ou em tanque, sendo no máximo um tanque por amostra. Antes de colher a amostra, homogeneizar suavemente o leite. Colher o leite utilizando como conservante o formol a 1%, ou o cloreto de mercúrio a 2%, na proporção de 1 mL de conservante para cada 10 mL de leite. O leite deve ser refrigerado e enviado ao laboratório. As amostras podem ser mantidas entre 2°C e 8°C por até duas semanas.

2) As amostras de leite devem ser mantidas entre 2°C e 8°C por, pelo menos, 24 horas antes da realização do TAL.

3) Uma amostragem incorreta poderá levar a conteúdo com excesso ou com insuficiência de creme, o que irá interferir na realização do TAL.

4) A agitação excessiva da amostra quebra os glóbulos de gordura e interfere na formação da camada de creme na superfície do leite.

5) O aquecimento do leite acima de 45°C diminui a quantidade de anticorpos anti-*Brucella* sp presentes na amostra.

6) O congelamento ou a pasteurização da amostra podem ocasionar resultados falso-negativos, portanto, tais amostras não devem ser utilizadas no TAL.

7) Leite ácido, leite recentemente colhido, leite contendo colostro, leite de vacas no período de secagem e leite de vacas com mamite podem apresentar resultados falso-positivos.

8) O tamanho do rebanho pode influenciar no resultado do teste quando o leite é colhido de latões. Para tanto, e em função do tamanho do rebanho, deve-se aumentar a quantidade de leite a ser utilizada no TAL, mantendo-se constante o volume do antígeno

(30 μ L). Para rebanhos com até 150 vacas em lactação, utiliza-se 1 mL de leite. Para rebanhos com 151 a 450 vacas em lactação, utilizam-se 2 mL de leite. Nos rebanhos com 451 a 700 vacas em lactação, utilizam-se 3 mL de leite. Rebanhos com mais de 700 vacas em lactação devem ser divididos em lotes menores para a realização do TAL.

9) Em todos os testes devem ser simultaneamente testadas amostras de leite controle positivo e negativo.

Técnica

1) Equilibrar as amostras de leite e o antígeno à temperatura ambiente por, pelo menos, 60 minutos.

2) Misturar bem as amostras de leite.

3) Colocar 1 mL de leite em tubos 10 mm x 100 mm. A coluna de leite deve ter, no mínimo, 2 cm.

Obs.: Em função do tamanho do rebanho, a quantidade de leite a ser utilizada no teste (empregando-se a mesma quantidade de antígeno, 30 μ L) deve ser aumentada para 2 mL ou 3 mL, conforme as recomendações do item 8 das Precauções na execução do teste.

4) Adicionar ao leite uma gota (30 μ L) de antígeno.

5) Tampar o tubo e misturar por inversão várias vezes.

6) Deixar em repouso por 1 minuto e verificar se a mistura está homogênea. Não deve sobrar antígeno nas paredes do tubo.

7) Incubar por 1 hora a 37°C.

8) Proceder à leitura.

9) Anotar os resultados.

Interpretação dos resultados

Anel de creme azul e coluna de leite branca ou azulada: **REAGENTE**

Anel de creme branco e coluna de leite azul: **NÃO REAGENTE**

Teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME)

Material

- Antígeno para a soroaglutinação lenta em tubo
- 2-Mercaptoetanol
- Salina 0,85%
- Salina 0,85%, fenicada 0,5%
- Amostras de soro a testar
- Soro controle positivo com título alto
- Soro controle positivo com título médio
- Soro controle positivo com título baixo
- Soro controle negativo
- Tubos de 10 mm x 75 mm ou 10 mm x 100 mm
- Grade para tubos
- Pipetas de Bang ou micropipetadores de volume ajustável
- Dispensador automático de 1 mL
- Dispensador automático de 2 mL
- Pipetas de 10 mL
- Caixa com luz indireta para a leitura
- Estufa a 37°C
- Vidraria para diluição dos reagentes

Precauções na execução do teste

1) A diluição do antígeno para a série de tubos com 2-ME deve ser realizada em solução salina a 0,85%, sem adição de fenol, pois este interfere com o 2-ME.

2) Recomenda-se fazer as diluições do antígeno 12 horas antes do uso.

3) Os antígenos diluídos devem ser conservados sob refrigeração (2°C a 8°C), podendo ser utilizados por um período de até uma semana.

4) O 2-ME é sensível à luz e ao calor e se deteriora rapidamente por exposição ao ar. Deve ser mantido em frascos de cor âmbar, hermeticamente fechados e sob refrigeração.

5) O 2-ME é tóxico para o ser humano e deve ser manuseado em capela de exaustão.

6) Em cada jornada de trabalho, deve ser incluído pelo menos um soro selecionado especialmente, com alto conteúdo de anticorpos IgM anti-*Brucella* e que não contenha IgG detectável pelo teste do 2-ME, bem como outro soro reagente na SAL e 2-ME.

7) Em cada teste serão incluídos também tubos de controle de antígeno, usando-se soros testados positivos de título conhecido e soro negativo.

8) Foi estabelecido que a incubação a 37°C durante 48 ± 3 horas é suficiente para se obter o máximo de aglutinação num soro de baixo conteúdo de aglutininas. Esse período de incubação é suficiente para o diagnóstico de rotina.

9) O Teste do 2-Mercaptoetanol é incubado e lido junto com o Teste de Soroaglutinação (lenta) em Tubos. Ocasionalmente, o tubo da diluição 1:25 pode estar um pouco opaco na prova do 2-ME, ainda que os tubos subseqüentes estejam claros. Tal fato não deve ser considerado como resultado negativo do teste.

10) A diferença de títulos entre ambos os testes (caso ela ocorra) é interpretada como a capacidade aglutinante do soro em decorrência de anticorpos da classe IgM. A presença de IgG geralmente está associada com infecção ativa. Assim sendo, toda reação positiva no teste do 2-ME (a partir de 1:25) deve ser considerada como indicativa de infecção. Em animais vacinados, predominam aqueles anticorpos sensíveis ao 2-ME (IgM), apresentando usualmente resultados negativos.

11) Animais no início de infecção apresentam a maioria dos anticorpos da classe IgM, apresentando-se negativos à prova do 2-ME.

Técnica

1) Diluir o antígeno para soroaglutinação lenta em tubos 100 vezes em solução salina a 0,85% contendo 0,5% de fenol. Concentração final 0,045.

2) Diluir o antígeno para soroaglutinação lenta em tubos 50 vezes em solução salina a 0,85% sem adição de fenol. Concentração final 0,090%.

3) Preparar solução de 2-ME a 0,1 M misturando-se 7,8 mL de 2-ME a 992,20 mL de solução salina a 0,85% sem fenol, ou volumes menores, proporcionalmente.

4) Para cada amostra de soro a testar, colocar, em uma estante, duas fileiras de quatro tubos.

5) Identificar o primeiro tubo de cada fileira com o número correspondente ao soro a testar.

6) A primeira fileira corresponde às quatro diluições do soro do teste de soroaglutinação lenta em tubos e deve ser marcada com uma letra T. A outra fileira, em que se fará o teste do 2-ME, deve ser marcada com a letra M.

7) Com uma pipeta de Bang, dotada de uma pêra de borracha, ou outro dispositivo de pipetagem que evite o uso da boca, carrega-se o soro até passar um pouco da graduação superior. Com um papel absorvente, limpa-se o extremo da pipeta; mantendo-se esta em posição vertical sobre a parede do tubo que contém a amostra, deixa-se escorrer o soro até que o fundo do menisco no interior da pipeta esteja nivelado com a sua graduação superior.

8) Com a pipeta no fundo do primeiro tubo da primeira fileira, deixa-se fluir 0,08 mL de soro. No segundo tubo, deposita-se 0,04 mL, no terceiro, 0,02 mL e no quarto, 0,01 mL.

9) Repete-se o procedimento descrito para depositar as mesmas quantidades de soro na segunda fileira de tubos (série do 2-ME).

10) Para todas as amostras de soro, repete-se o procedimento de forma similar, pipetando os soros para cada duas fileiras de tubos adequadamente identificados.

11) Incluir os soros controle positivos com atividade aglutinante conhecida.

12) Incluir o soro controle negativo no teste do 2-ME.

13) Com o dispensador automático de 2 mL ou pipeta de 10mL, agregam-se a cada um dos quatro tubos das fileiras T, 2 mL do antígeno diluído 1:100 (0,045% de células) em salina fenicada (0,5% de fenol).

14) Com o dispensador automático de 2 mL (regulado para 1 mL), ou pipeta de 10 mL, agrega-se 1 mL de solução de 2-ME 0,1 M (diluído em solução salina sem fenol) a cada um dos tubos das fileiras M.

15) Mistura-se bem, agitando a estante.

16) Deixar as estantes com as amostras em repouso durante 30 minutos à temperatura ambiente.

17) Após os 30 minutos, empregando-se outro dispensador automático, ou outra pipeta de 10mL, agrega-se a cada tubo da fileira M, 1 mL do antígeno diluído 1:50 (0,09 % de células) em solução salina fisiológica (sem fenol). A concentração final do antígeno na solução será 0,045% e a do 2-ME será de 0,05M.

18) Mistura-se bem, agitando a estante.

19) Incubar a 37°C por 48 ± 3 horas.

20) A leitura do teste é feita através de uma fonte de luz indireta contra um fundo escuro e opaco, com uma forte luz que atravesse os tubos. As fontes de luz estranhas devem ser reduzidas. As interpretações baseiam-se no grau de aglutinação do antígeno e na firmeza dos grumos, após agitação suave dos tubos.

21) Anotar os resultados. Se houver interesse na determinação do título final de um soro, poderá ser empregado o método de diluições seriadas (dobradas).

Interpretação dos resultados

O grau de aglutinação em cada uma das distintas diluições deve ser classificado como: completo (+), incompleto (I) ou negativo (-):

- **Reação completa** – é aquela em que o líquido da mistura soro-antígeno aparece translúcido e a agitação suave não rompe os grumos;

- **Reação incompleta** – é aquela em que a mistura soro-antígeno aparece parcialmente translúcida, e uma suave agitação não rompe os grumos;
- **Reação negativa** – é aquela em que a mistura soro-antígeno aparece opaca ou turva, e uma agitação suave não revela grumos.

A interpretação dos resultados da prova é realizada segundo os Quadros 1 e 2.


Quadro 1 – Interpretação da prova do 2-ME para fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses e vacinadas entre 3 e 8 meses de idade

2-ME SAL	NR	25 I	25	50 I	50	100 I	100	200 I	200
NR	–								
25 I	–	–							
25	–	–	+						
50 I	–	–	+	+					
50	–	–	+	+	+				
100 I	–	–	+	+	+	+			
100	Inc	Inc	+	+	+	+	+		
200 I	Inc	Inc	+	+	+	+	+	+	
200	Inc	Inc	+	+	+	+	+	+	+

+ : positivo

– : negativo

Inc : reação inconclusiva

 : combinação que não pode ocorrer

2-ME : 2-Mercaptoetanol

SAL : soroaglutinação lenta

NR : não reagente

I : reação incompleta

Quadro 2 – Interpretação da prova do 2-ME para fêmeas não vacinadas e machos com idade superior a 8 meses

2-ME SAL	NR	25 I	25	50 I	50	100 I	100	200 I	200
NR	-								
25 I	-	-							
25	-	-	+						
50 I	-	-	+	+					
50	Inc	Inc	+	+	+				
100 I	Inc	Inc	+	+	+	+			
100	Inc	Inc	+	+	+	+	+		
200 I	Inc	Inc	+	+	+	+	+	+	
200	Inc	Inc	+	+	+	+	+	+	+

+ : positivo

- : negativo

Inc : reação inconclusiva

□ : combinação que não pode ocorrer

2-ME : 2-Mercaptoetanol

SAL : soroaglutinação lenta

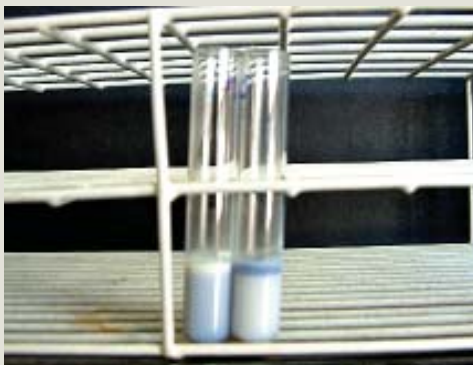
NR : não reagente

I : reação incompleta



**Teste do Antígeno
Acidificado
Tamponado**

Reação Positiva



Teste do Anel em Leite

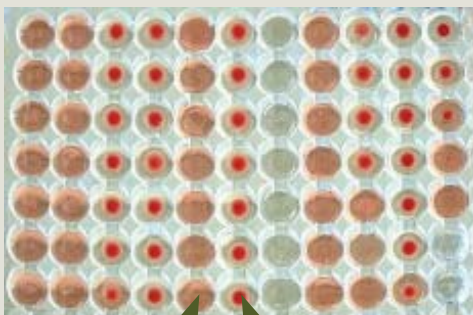
Tubo da esquerda:
negativo

Tubo da direita:
positivo



**Teste do
2-Mercaptoetanol**

1º Tubo da esquerda:
positivo



**Teste de Fixação de
Complemento**

Negativo

Positivo

PROTOCOLO PARA DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE

Diagnóstico Alérgico

O diagnóstico alérgico da tuberculose bovina será feito por médico veterinário habilitado, empregando-se provas de tuberculinização intradérmica.

Tuberculinas

Deverão ser utilizadas somente as tuberculinas PPD (Purified Protein Derivative – Derivado Protéico Purificado) bovina e aviária, produzidas segundo as normas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo as partidas controladas e aprovadas pelo Ministério. As tuberculinas deverão ser transportadas e conservadas em temperatura de, no mínimo, +2°C e de, no máximo, +8°C, e protegidas da luz solar direta. O conteúdo dos frascos, após sua abertura, deverá ser usado no mesmo dia.

Equipamentos

Para a realização dos testes diagnósticos de tuberculose, será obrigatória a utilização de seringas e cutímetros adequados:

- seringas: seringas multidoses calibradas para 0,1 mL, com agulhas de calibre 22 G x 3 mm ou 4 mm de comprimento;
- cutímetro: cutímetros específicos para tuberculinização de bovídeos.

Identificação dos animais

Os animais serão identificados individualmente, quer por tatuagem quer por outra forma, inclusive pelo Registro Genealógico; ou poderão ser identificados pelo método definido para o programa de rastreabilidade do MAPA.

Testes

Teste Cervical Simples (TCS)

Realização do teste

Para a tuberculinização simples, a inoculação de tuberculina PPD bovina será feita na região cervical, no terço médio, e a uma distância igual das bordas superior e inferior do pescoço, ou escapular, na região da espinha da escápula e a 20 cm da cernelha.

A região será demarcada por tricotomia, devendo-se evitar local com lesão ou nódulos de parasitos. A espessura da dobra da pele será determinada com o auxílio de cutímetro antes da inoculação, e as medidas serão anotadas no formulário para exame de brucelose e tuberculose, de acordo com as normas para habilitação.

A tuberculina PPD bovina será inoculada por via intradérmica na dosagem de 0,1 mL. A formação de uma pápula no local indica que a inoculação foi correta.

Leitura e interpretação dos resultados

Após 72 ± 6 horas da inoculação, será realizada nova medida da dobra da pele no local de inoculação da tuberculina PPD bovina, sendo o resultado anotado no respectivo campo do formulário para exame de brucelose e tuberculose .

O aumento da espessura da dobra da pele (ΔB) será assim calculado: da medida da dobra da pele 72 horas após a inoculação (B72), subtrai-se a medida da dobra da pele tomada no dia da inoculação para a tuberculina PPD bovina (B0). O resultado será anotado no respectivo campo do formulário para exame de brucelose e tuberculose ($\Delta B = B72 - B0$). Os resultados obtidos serão interpretados de acordo com os critérios definidos na Tabela 3 do Regulamento Técnico do PNCEBT (ver página 155).



Tricotomia



Medida da espessura da dobra da pele (em mm)



**Inoculação
intradérmica de
tuberculina
(PPD bovino)**

Teste Cervical Comparativo (TCC)

É o teste confirmatório utilizado em animais reagentes ao Teste Cervical Simples (TCS) e ao Teste da Prega Caudal (TPC). É também recomendado como teste de rotina para estabelecimentos de criação com ocorrência de reações inespecíficas, estabelecimentos certificados como livres e para estabelecimentos de criação de bubalinos, visando garantir boa especificidade diagnóstica.

Realização do teste

Para o TCC, as tuberculinas serão inoculadas por via intradérmica na dosagem de 0,1 mL, sendo o PPD aviário inoculado cranialmente e o PPD bovino caudalmente. A formação de uma pápula no local indica que a inoculação foi correta.

A inoculação de tuberculina PPD aviária será feita na região cervical, na junção do terço anterior e do terço médio e a uma distância igual das bordas superior e inferior do pescoço, ou escapular, à frente da espinha da escápula, e a 20 cm da cernelha. A tuberculina PPD bovina será inoculada na região cervical, na junção do terço médio e terço posterior e a uma distância igual das bordas superior e inferior do pescoço, ou escapular, atrás da espinha da escápula, e a 20 cm da cernelha, havendo uma distância mínima de 15 a 20 cm entre as duas inoculações. Recomenda-se que a inoculação seja efetuada de um mesmo lado de todos os animais do estabelecimento de criação.

Os locais serão demarcados por tricotomia, devendo-se evitar áreas com lesão ou nódulos de parasitos. A espessura da dobra da pele será determinada com o auxílio de cutímetro antes da inoculação. As medidas da dobra da pele do local da inoculação da tuberculina PPD aviária e da tuberculina PPD bovina serão anotadas nos respectivos campos no formulário para exame de brucelose e tuberculose.

Leitura e interpretação dos resultados

Após 72 ± 6 horas da inoculação, será realizada nova medida da dobra da pele no local de inoculação da tuberculina PPD aviária e da tuberculina PPD bovina, sendo os resultados anotados nos respectivos campos do formulário para exame de brucelose e tuberculose.

O aumento da espessura da dobra da pele será assim calculado: da medida da dobra da pele 72 horas após a inoculação, subtrai-se a medida da dobra da pele tomada no dia da inoculação para a tuberculina PPD aviária (ΔA) e a tuberculina PPD bovina (ΔB). Os resultados serão anotados nos respectivos campos no formulário para exame de brucelose e tuberculose. A diferença de aumento da dobra da pele provocado pela inoculação da tuberculina PPD bovina (ΔB) e da tuberculina PPD aviária (ΔA) será calculada subtraindo-se ΔA de ΔB . Anota-se o valor no campo respectivo do formulário para exame de brucelose e tuberculose. Os resultados das diferenças ($\Delta B - \Delta A$) serão interpretados de acordo com os critérios definidos na Tabela 4 do Regulamento Técnico do PNCEBT (ver página 157).



Tricotomia



Medida da espessura da dobra da pele (em mm)



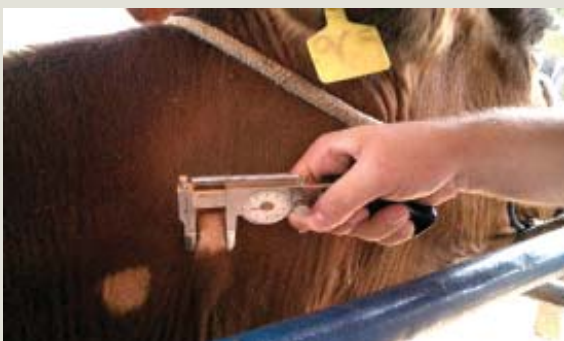
**Inoculação intradérmica de tuberculina (PPD aviário):
formação de pápula**



Inoculação intradérmica de tuberculina (PPD bovino)



Reação tuberculínica positiva



Reação inespecífica

Teste da Prega Caudal (TPC)

Esse teste só poderá ser empregado em rebanhos de corte como prova de triagem ou como monitoramento.

Realização do teste

A tuberculina PPD bovina será inoculada por via intradérmica na dosagem de 0,1 mL, 6 cm a 10 cm da base da cauda, na junção da pele pilosa e da pele glabra. Antes da inoculação, o local deve estar limpo. A formação de uma pápula no local indica que a inoculação foi correta. A inoculação da tuberculina PPD poderá ser feita na prega caudal de quaisquer dos lados; recomenda-se, todavia, que, para um determinado rebanho, seja utilizado o mesmo lado para inoculação.

Leitura e interpretação dos resultados

Após 72 ± 6 horas da inoculação será realizada a leitura do teste, comparando-se, por avaliação visual e palpação, a prega inoculada com a prega do lado oposto.

Qualquer aumento de espessura na prega inoculada classificará o animal como **REAGENTE**.



Inoculação de PPD bovino



Reação tuberculínica positiva

ELIMINAÇÃO DE ANIMAIS

Os animais que apresentarem testes diagnósticos positivos para tuberculose ou brucelose deverão, preferencialmente, ser encaminhados ao abate sanitário em estabelecimentos com serviço de inspeção de carcaças.

Como alternativa, eles poderão ser destruídos na própria unidade de criação, observados os critérios abaixo especificados.

É preciso salientar, ainda, que a destruição do animal precisa ser acompanhada pelo serviço oficial de defesa sanitária animal.

1) A destruição deve ser feita por método que assegure uma morte rápida e sem espalhamento de sangue. De preferência, dentro da cova onde o animal será enterrado (considerar Resolução CFMV Nº 714, de 20 de junho de 2002).

2) Não se aconselha fazer necropsia, pois são agentes zoonóticos. Na eventualidade de realização de necropsia, é necessário usar o equipamento de proteção individual e descontaminar todos os materiais utilizados.

3) A cova deve ser 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 2 metros, impedindo que animais escavadores e minhocas tragam os patógenos para a superfície.

4) Havendo necessidade de descontaminação de materiais (instrumentos de necropsia, vestimentas, botas, etc.), recomenda-se a fervura por 30 minutos ou, como alternativa, a imersão em desinfetantes químicos.

MÉTODOS DE DESINFECÇÃO

O *Mycobacterium bovis* e a *Brucella abortus* são agentes que podem sobreviver durante meses no meio ambiente, aumentando sua chance de infectar outros suscetíveis. Portanto, a adoção de programas de desinfecção de currais, de estábulos e demais locais de aglomeração de animais adquire grande importância como medida complementar ao combate a esses patógenos. É uma prática que pode ser aplicada às criações intensivas e semi-intensivas, pois haverá óbvias restrições às extensivas. Para estas, recomenda-se um eficiente manejo das pastagens e piquetes, permitindo que os elementos naturais reduzam a sobrevivência desses patógenos no ambiente. Boa insolação, baixa umidade e altas temperaturas são fatores que restringem a sua sobrevivência.

Quanto ao programa de desinfecção, não basta simplesmente aplicar o desinfetante. Deve-se, preliminarmente, desimpedir o local por meio da remoção de camas, palhas e esterco de todas as superfícies internas e externas, inclusive das reentrâncias. O material recolhido será queimado ou também submetido à desinfecção. Em seguida, aplica-se o desinfetante, observando-se atentamente as recomendações do fabricante, tendo o cuidado de distribuí-lo bem sobre as superfícies.

Veículos que transportam animais infectados devem de igual modo ser cuidadosamente desinfetados. Pastagens utilizadas por animais infectados que abortaram ou pariram precisam permanecer em descanso por, pelo menos, dois meses.

Na eventualidade de haver contaminação de áreas de terra nua ou com vegetação rasteira, recomenda-se delimitar o terreno para o espalhamento de pó de cal (hidróxido de cálcio) e posterior

aradura ou revolvimento da terra para que as camadas superficiais do solo entrem em contato e misturem-se adequadamente à cal. Em seguida, o solo deverá ser nivelado e compactado com rolo ou socador, a fim de criar condições anaeróbicas nas suas camadas mais profundas.

Um detalhe bastante importante é a escolha do princípio ativo. Os Quadros 1, 2 e 3 listam os desinfetantes mais adequados e orientam quanto à melhor forma de aplicá-los.

Quadro 1 – Quantidade de desinfetante a ser utilizada para cada tipo de material a ser desinfetado

Item a ser desinfetado	Unidade	Quantidade de desinfetante a ser utilizado (L)
Instalações	m ²	1
Esterco líquido	L	1
Pisos de terra	m ²	5
Utensílios	kg	2
Roupas de trabalho	kg	5
Veículos em geral	m	1

Fonte: Adaptado de Russel et al. (1984).

Quadro 2 – Desinfetantes utilizados em casos de brucelose bovina

Desinfetante	Concentração	Tempo de exposição	Temperatura de utilização	Uso indicado
Cal (hidróxido de cálcio)	15%	1 hora	Ambiente	Instalações, solo
Cresóis	5%	1 hora	Ambiente	Instalações
Fenol	1%	1 hora	37°C	Instalações
Formol	5% ¹	1 hora	Ambiente	Instalações, utensílios e roupas
Hipoclorito de cálcio	2,5%	1 hora	Ambiente	Instalações e utensílios
Hipoclorito de sódio	2,5%	1 hora	Ambiente	Instalações e utensílios
Soda cáustica	2% – 3%	3 horas	60°C	Instalações e utensílios

Fonte: Adaptado de Russel et al. (1984).

¹ Equivalente a 2% de formaldeído

Quadro 3 – Desinfetantes utilizados em casos de tuberculose bovina

Desinfetante	Concentração	Tempo de exposição	Temperatura de utilização	Uso indicado
Cal (hidróxido de cálcio)	20%	3 horas	Ambiente	Instalações, solo
Cresóis	5%	3 horas	Ambiente	Instalações
Fenol	5%	3 horas	37°C	Instalações
Formol	7,5% ¹	3 horas	Ambiente	Instalações, utensílios e roupas
Hipoclorito de cálcio	5%	3 horas	Ambiente	Instalações e utensílios
Hipoclorito de sódio	5%	3 horas	Ambiente	Instalações e utensílios
Soda cáustica	2% – 3%	3 horas	60°C	Instalações e utensílios

Fonte: Adaptado de Russel et al. (1984).

¹ Equivalente a 3% de formaldeído

Bibliografia

RUSSEL, A.D.; YARNYCH, V.S.; KOULIKOVSKII, A.V. (Ed.). *Guidelines on disinfection in animal husbandry for prevention and control of zoonotic diseases*. Geneva: World Health Organization, 1984. (WHO/VPH/84.4).

PERGUNTAS E RESPOSTAS SOBRE NORMAS E PROCEDIMENTOS

Colaboraram na elaboração deste Capítulo:

Maria Carmen de Rezende Costa (SFA-MG/MAPA) e Maria do Carmo Pessôa e Silva (SEAB/PR)

Vacina contra Brucelose

1. POR QUE VACINAR CONTRA BRUCELOSE?

Para induzir imunidade ou proteção contra a doença e diminuir a prevalência da brucelose bovina e bubalina. Quanto maior for o número de fêmeas vacinadas, maior será a imunidade do rebanho, menor o número de animais suscetíveis e menor a possibilidade de difusão da doença.

2. QUAIS ANIMAIS DEVEM SER VACINADOS?

Todas as fêmeas bovinas e bubalinas entre 3 e 8 meses de idade, somente uma vez na vida. É proibida a vacinação de machos de qualquer idade e de fêmeas com idade superior a 8 meses. Sendo vacinada até os 8 meses, evita-se que a fêmea apresente títulos aglutinantes persistentes em testes sorológicos, após os 24 meses de idade.

3. QUE TIPO DE VACINA PODE SER UTILIZADA?

Para a vacinação de fêmeas entre 3 e 8 meses de idade é obrigatório o uso da vacina com amostra B19. Como é uma vacina viva atenuada, apresenta riscos para a saúde humana e, portanto, deve ser SEMPRE aplicada sob a responsabilidade técnica de um médico veterinário.

A utilização de vacinas produzidas com outras amostras, que não a B19, para fins de vacinação estratégica, será disciplinada em norma específica do MAPA.

4. QUEM APLICA A VACINA?

Médico veterinário cadastrado na Unidade Veterinária Local (UVL) do serviço oficial de defesa sanitária animal, ou um vacinador

devidamente treinado e supervisionado por esse médico veterinário. Onde não houver médicos veterinários cadastrados, ou em regiões onde eles não atenderem plenamente à demanda do PNCEBT, o serviço oficial de defesa sanitária animal poderá assumir a responsabilidade técnica ou, mesmo, a execução da vacinação.

5. COMO CADASTRAR-SE PARA FAZER A VACINAÇÃO?

O médico veterinário deve solicitar o cadastramento em uma Unidade Veterinária Local do serviço oficial de defesa sanitária animal do(s) Estado(s) onde trabalha.

6. ONDE E COMO ADQUIRIR A VACINA?

Em estabelecimentos comerciais de produtos de uso veterinário, registrados no serviço oficial de defesa sanitária animal.

É obrigatória a apresentação de receita emitida por médico veterinário cadastrado ou por médico veterinário oficial, nos casos em que estes assumirem a responsabilidade direta pela vacinação.

7. É PRECISO EMITIR UMA RECEITA PARA CADA PROPRIEDADE?

Não. O médico veterinário cadastrado poderá adquirir vacina para mais de uma propriedade com uma única receita apresentada em um estabelecimento comercial. Contudo, deverá ser emitido um atestado de vacinação para cada propriedade atendida.

8. COMO CONSERVAR A VACINA?

Deve ser mantida sob refrigeração, em temperatura entre 2°C e 8°C, e ao abrigo do sol, inclusive durante o processo de vacinação das bezerras. Ao ser reconstituída na forma líquida, a vacina deve ser imediatamente aplicada, não podendo ser utilizada posteriormente.

9. COMO PREPARAR A VACINA PARA O USO?

A vacina liofilizada deve ser reconstituída imediatamente antes do uso. Deve ser agitada de maneira suave durante alguns minutos. Sobras de vacina não podem ser aproveitadas.

10. QUAIS SÃO OS CUIDADOS NA APLICAÇÃO DA VACINA?

Por ser uma vacina viva e patogênica para o homem, deve ser manuseada com cuidado, evitando-se a contaminação. Portanto, recomenda-se o uso de óculos e luvas de proteção. Após o uso, os frascos, as agulhas e seringas devem ser esterilizados e descartados adequadamente.

11. COMO APLICÁ-LA?

Usar agulhas e seringas estéreis descartáveis, e não usar desinfetantes. Pode-se também utilizar agulhas e seringas após fervura. O volume de vacina usado para cada bezerra, assim como sua via de inoculação, deve ser conforme a recomendação do laboratório fabricante (seguir a orientação da bula).

12. COMO IDENTIFICAR AS FÊMEAS VACINADAS?

As bezerras deverão ser marcadas a ferro candente com a letra V, acompanhada do algarismo final do ano da vacinação, no lado esquerdo da cara. As fêmeas destinadas ao registro genealógico, quando devidamente identificadas, ou aquelas identificadas individualmente por sistema aprovado pelo MAPA, ficam excluídas da obrigatoriedade da marcação a fogo, sendo que, nesse caso, deverá ser utilizado modelo específico de atestado de vacinação.

13. COMO COMPROVAR A VACINAÇÃO?

Por meio de atestado, emitido pelo médico veterinário cadastrado responsável pela vacinação, conforme a legislação vigente. O atestado deverá ser encaminhado pelo proprietário à Unidade Veterinária Local do serviço oficial de defesa sanitária animal, onde a propriedade está cadastrada. É obrigatória a comprovação da vacinação de bezerras, no mínimo, uma vez por semestre.

Cadastramento de Médicos Veterinários

14. POR QUE SE CADASTRAR?

Para que a vacinação de bezerras contra a brucelose possa ter reconhecimento oficial. O serviço oficial de defesa sanitária

animal poderá contatar o médico veterinário cadastrado sempre que houver necessidade de fiscalizar e monitorar as ações, ou para fornecer informações oficiais.

15. QUEM FAZ O CADASTRAMENTO?

O serviço oficial de defesa sanitária animal estadual.

16. QUANDO SE CADASTRAR?

Não há prazo limite para cadastramento. Basta procurar um escritório do serviço oficial de defesa sanitária animal do Estado.

Habilitação de Médicos Veterinários

17. POR QUE SE HABILITAR E QUAIS OS DIREITOS DO HABILITADO?

Para realizar testes de diagnóstico de rotina para brucelose (Antígeno Acidificado Tamponado – AAT e Teste do Anel em Leite – TAL) e tuberculose em bovinos e bubalinos.

Para ser responsável pelo processo de saneamento das propriedades, visando à certificação de LIVRE ou MONITORADA para brucelose e tuberculose.

O médico veterinário habilitado atua sob supervisão do serviço oficial de defesa sanitária animal.

18. O QUE É PRECISO PARA SER HABILITADO E QUAIS OS DEVERES DO HABILITADO?

Estar inscrito no(s) Conselho(s) de Medicina Veterinária da(s) Unidade(s) Federativas(s) de atuação.

Ter sido aprovado em curso de treinamento em métodos de diagnóstico e controle da brucelose e tuberculose, reconhecido pelo DSA/MAPA, e realizado por instituição de ensino ou pesquisa em Medicina Veterinária.

Cumprir o Regulamento Técnico e demais normas complementares do PNCEBT.

Possuir infra-estrutura e material adequado à execução dos testes de diagnóstico.

Fornecer informações e apresentar relatórios de atividades, relacionados com o PNCEBT à Unidade Veterinária Local do serviço oficial de defesa sanitária animal.

19. ONDE SE HABILITAR?

Ao concluir o curso de treinamento e de posse do certificado, o veterinário deverá formalizar seu pedido de habilitação junto a uma Unidade Veterinária Local do serviço oficial de defesa sanitária animal, onde irá, estando habilitado, apresentar os relatórios de atividades relacionados ao PNCEBT.

20. QUAL É A ABRANGÊNCIA PARA ATUAÇÃO DO HABILITADO?

Todo o território da Unidade Federativa na qual o médico veterinário foi habilitado. Para atuar em mais de uma Unidade da Federação, o médico veterinário deverá estar inscrito no respectivo CRMV, procurar o serviço oficial de defesa sanitária animal desse outro Estado, apresentar o certificado de conclusão do curso de treinamento e formalizar seu pedido de habilitação.

21. QUAL A ABRANGÊNCIA DO CURSO DE TREINAMENTO?

O curso tem validade em todo o território nacional, desde que seja reconhecido pelo DSA/MAPA.

Antígenos para Brucelose e Tuberculinas

22. QUAIS SÃO OS TESTES PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE?

Para uso do médico veterinário habilitado são: Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e Teste do Anel em Leite (TAL).

Para uso dos laboratórios credenciados são: Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), 2-Mercaptoetanol (2-ME) e Teste do Anel em Leite (TAL).

Para uso dos laboratórios oficiais credenciados são: Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), 2-Mercaptoetanol (2-ME), Teste do Anel em Leite (TAL) e Fixação de Complemento (FC).

O teste de Fixação de Complemento só terá valor oficial se realizado em laboratório oficial credenciado.

23. QUAIS SÃO AS TUBERCULINAS UTILIZADAS?

Para o Teste Cervical Simples (TCS) e o Teste da Prega Caudal (TPC) é o PPD bovino.

Para o Teste Cervical Comparativo (TCC) são os PPD bovino e PPD aviário.

24. ONDE ADQUIRI-LOS?

No serviço oficial de defesa sanitária animal do Estado.

25. COMO ADQUIRI-LOS?

Mediante preenchimento de formulário próprio, no local onde for adquirir os produtos biológicos.

26. QUANDO ADQUIRI-LOS?

Sempre que necessário. Para aquisição de novos produtos biológicos, deverá ser apresentado relatório de utilização dos insumos adquiridos anteriormente.

27. QUEM PODE ADQUIRI-LOS?

Somente os médicos veterinários habilitados junto ao PNCEBT, os laboratórios credenciados, os laboratórios oficiais credenciados, as instituições de ensino ou pesquisa em medicina veterinária e os médicos veterinários cadastrados no Serviço Oficial como responsáveis técnicos de granjas de suídeos.

28. COMO CONSERVAR E UTILIZAR OS PRODUTOS BIOLÓGICOS?

Os produtos devem ser conservados sob refrigeração (2°C a 8°C) e usados sempre dentro do prazo de validade. Não podem ser congelados.

Diagnóstico de Brucelose

29. QUAIS ANIMAIS DEVEM SER TESTADOS?

As fêmeas de idade igual ou superior a 24 meses, desde que vacinadas entre 3 e 8 meses; os machos e a as fêmeas não vacinadas, a partir dos 8 meses de idade. Excluem-se desses os animais castrados.

As fêmeas submetidas a testes sorológicos, no intervalo de 15 dias antes e até 15 dias após o parto, deverão ser retestadas no período de 30 a 60 dias após o parto.

Para certificação de propriedade MONITORADA, os testes serão aplicados apenas em fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses e nos machos reprodutores, de acordo com o estabelecido no regulamento técnico do PNCEBT.

30. FÊMEAS VACINADAS (AMOSTRA B19) PODEM SER TESTADAS?

Podem, desde que com idade igual ou superior a 24 meses.

31. ANIMAIS DE PROPRIEDADES QUE NÃO ESTIVEREM SENDO CERTIFICADAS PODEM SER TESTADOS?

Sim, desde que os animais POSITIVOS sejam marcados, afastados da produção e isolados até serem SACRIFICADOS ou DESTRUÍDOS, num prazo máximo de 30 dias. Os testes só podem ser realizados por médicos veterinários habilitados ou por laboratórios credenciados pelo MAPA.

32. QUAIS TESTES PODEM SER FEITOS PELO MÉDICO VETERINÁRIO HABILITADO?

O Teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e o Teste do Anel em Leite (TAL).

33. COM QUAL FINALIDADE SERÁ UTILIZADO O TESTE DO ANEL EM LEITE?

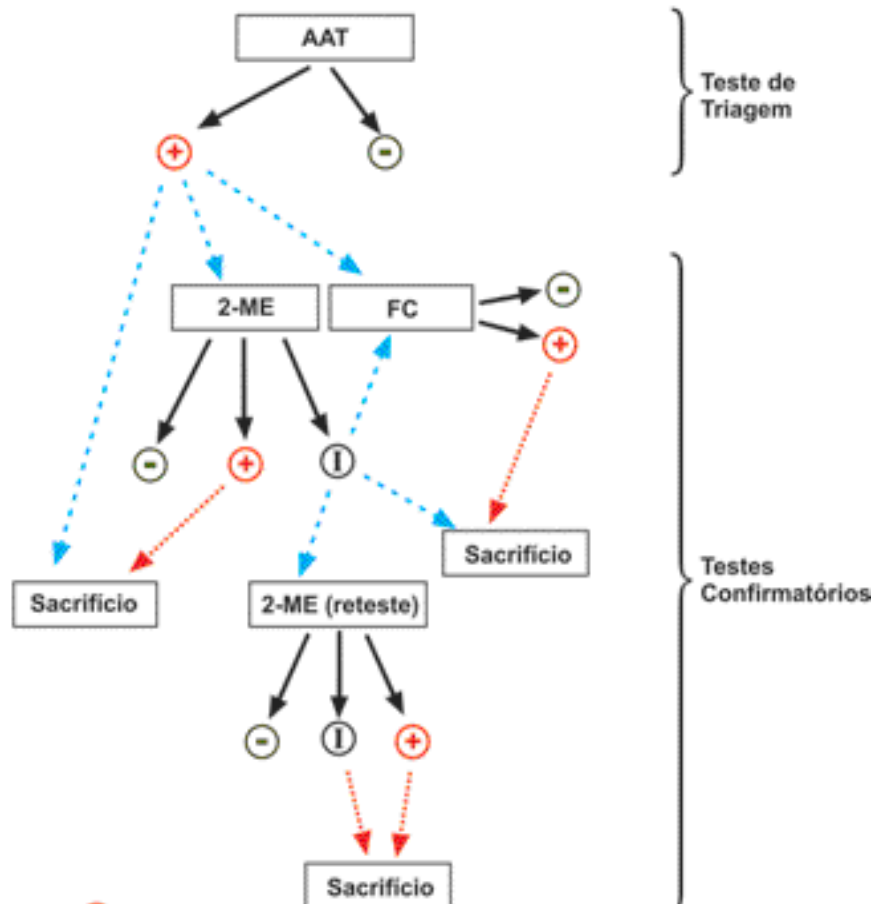
Para monitorar a condição sanitária de estabelecimentos de criação. Este teste poderá ser usado por veterinários habilitados, por laboratórios credenciados ou, ainda, pelo serviço oficial de defesa sanitária animal.

34. QUAL A CONDUTA A SER ADOTADA EM REBANHOS QUE APRESENTAREM O TESTE DO ANEL EM LEITE POSITIVO ?

Em caso de positividade, os animais do estabelecimento de criação deverão ser submetidos a TESTES SOROLÓGICOS individuais para diagnóstico de brucelose.

Esquema 1

Diagnóstico da Brucelose



- (+)** Positivo
- (-)** Negativo
- (I)** Inconclusivo

.....> Indica ações obrigatórias

-.-> Indica alternativas de decisão

—> Indica possibilidades de resultados

AAT: Teste do Antígeno Acidificado Tamponado

2-ME: Teste do 2-Mercaptoetanol

FC: Teste de Fixação de Complemento

Diagnóstico de Tuberculose

35. QUAIS TESTES PODEM SER FEITOS PELO MÉDICO VETERINÁRIO HABILITADO?

São os testes alérgicos: de tuberculinização cervical simples, cervical comparativo e na prega caudal.

36. EM QUE CIRCUNSTÂNCIA É PERMITIDO O TESTE NA PREGA CAUDAL?

Somente quando o teste é aplicado em rebanhos de corte.

37. EM QUE CIRCUNSTÂNCIA É RECOMENDADO O TESTE CERVICAL SIMPLES?

Como diagnóstico de rotina, em virtude de ser a prova de tuberculinização de maior sensibilidade.

38. EM QUAIS CIRCUNSTÂNCIAS RECOMENDA-SE O TESTE CERVICAL COMPARATIVO?

Em animais reagentes ao Teste da Prega Caudal e ao Teste Cervical Simples.

É também recomendado como teste de rotina para estabelecimentos de criação com ocorrência de reações inespecíficas, estabelecimentos certificados como livres e para estabelecimentos de criação de bubalinos, visando garantir boa especificidade diagnóstica.

39. QUAIS EQUIPAMENTOS DEVEM SER USADOS PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSE?

Equipamento para tricotomia, cutímetro, agulhas intradérmicas e seringas multidoses específicas para tuberculinização em bovinos.

40. ANIMAIS DE PROPRIEDADES QUE NÃO ESTIVEREM EM SANEAMENTO OU CERTIFICADAS PODEM SER TESTADOS?

Podem, desde que os animais POSITIVOS sejam marcados, afastados da produção e isolados até serem SACRIFICADOS ou

DESTRUÍDOS, num prazo máximo de 30 dias. Em todos os casos, os testes só podem ser realizados por médicos veterinários habilitados no PNCEBT.

41. QUAIS ANIMAIS DEVEM SER TESTADOS?

Todos os bovinos e bubalinos, machos e fêmeas, com mais de 6 semanas de idade.

As fêmeas não reagentes aos testes de diagnóstico realizados no intervalo de 15 dias antes do parto e até 15 dias após o parto, deverão ser retestadas no período de 60 a 90 dias após o parto, obedecendo a um intervalo mínimo de 60 dias entre os testes.

Para certificação de propriedade MONITORADA, serão testadas as fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses, e os machos reprodutores da mesma faixa etária.

42. QUAL A CONDUTA QUANDO O RESULTADO FOR INCONCLUSIVO?

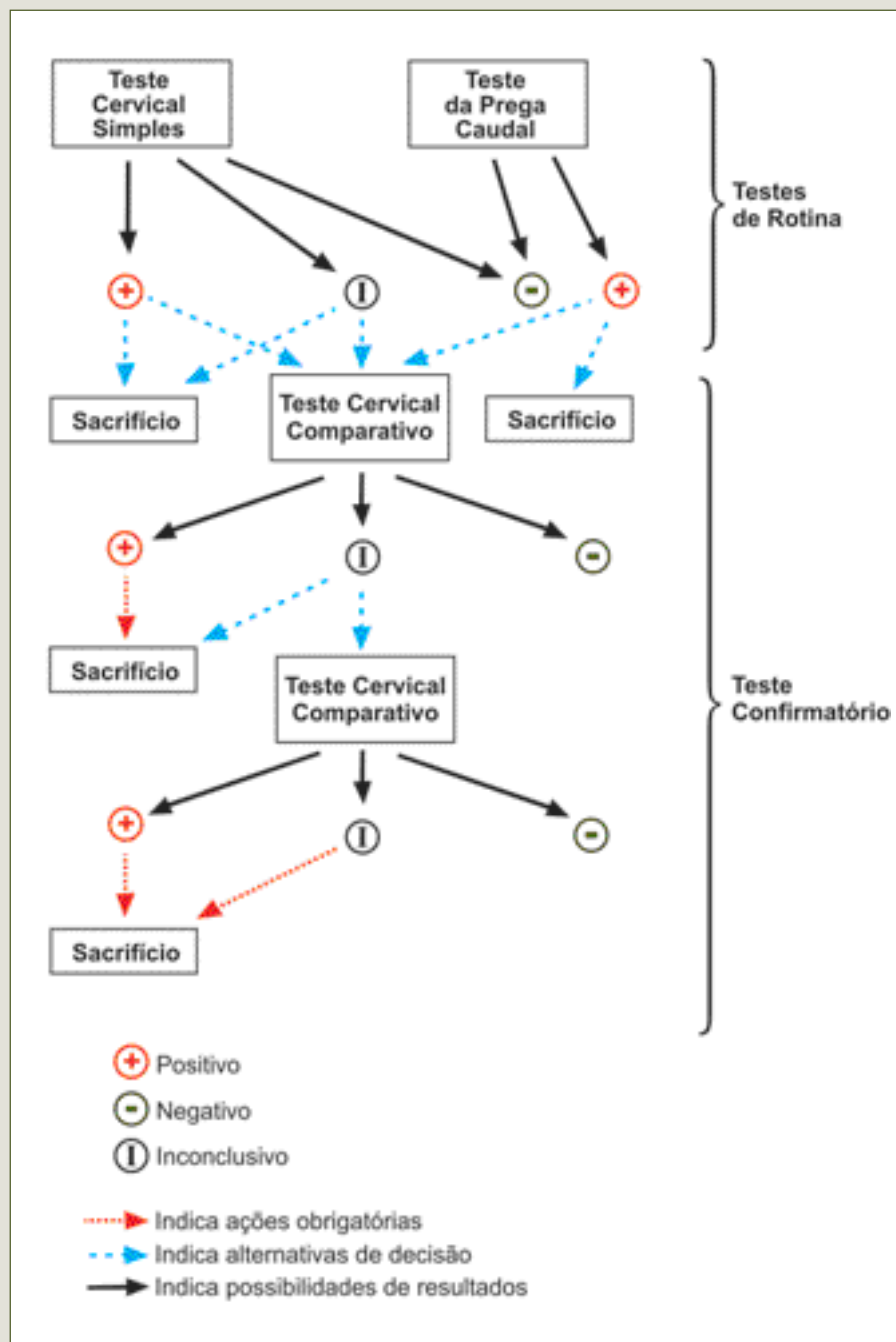
Se for realizado Teste Cervical Simples, o animal reagente positivo ou inconclusivo poderá ser sacrificado (ou destruído), em um prazo máximo de 30 dias ou, ainda, ser submetido ao Teste Cervical Comparativo com intervalo de 60 a 90 dias após o teste anterior.

Se for feito teste comparativo e o resultado também for inconclusivo, o animal poderá ser sacrificado (ou destruído) em um prazo máximo de 30 dias ou ainda ser submetido a segundo teste comparativo com intervalo mínimo de 60 dias entre os testes.

Se o resultado desse segundo teste comparativo também for inconclusivo, o animal será classificado como reagente positivo e DEVERÁ ser marcado a ferro candente com letra P no lado direito da cara, isolado de todo rebanho e sacrificado (ou destruído) no prazo máximo de 30 dias.

Esquema 2

Diagnóstico da Tuberculose



Destino dos Animais Reagentes Positivos

43. O QUE FAZER COM OS ANIMAIS POSITIVOS?

Em primeiro lugar, retirá-los da produção e isolá-los dos demais animais do rebanho. Marcar com ferro candente um P no lado direito da cara. No prazo máximo de 30 dias encaminhá-los ao abate em estabelecimento com inspeção sanitária oficial, ou destruí-los na propriedade, desde que com acompanhamento do serviço oficial de defesa sanitária animal.

44. AS CRIAS RECÉM-PARIDAS DE FÊMEAS POSITIVAS PODEM SER APROVEITADAS?

Sim, desde que o animal recém-nascido seja separado imediatamente da mãe POSITIVA e alimentado com colostro e leite de fêmea NEGATIVA. Posteriormente, esse animal deverá ser submetido aos testes para diagnóstico de brucelose e tuberculose.

45. O LEITE DAS FÊMEAS POSITIVAS PODE SER APROVEITADO?

Não. Os animais POSITIVOS devem ser marcados e afastados da produção imediatamente, até que sejam sacrificados. O leite NÃO poderá ser usado nem para consumo humano, nem para alimentação de qualquer espécie animal.

46. A CARNE DE ANIMAIS POSITIVOS PODE SER CONSUMIDA?

A carne pode ter aproveitamento condicional, segundo critérios estabelecidos pelo Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Se o animal for destruído no estabelecimento de criação, a carne NÃO deve ser aproveitada para consumo humano, nem como alimento para qualquer espécie animal.

Trânsito Interestadual e Aglomerações de Bovinos e Bubalinos (Feiras e Exposições)

47. QUAIS ANIMAIS DEVEM SER TESTADOS EM CASO DE EXPOSIÇÕES E LEILÕES DE REBANHO DE ELITE?

Teste de brucelose: machos e fêmeas acima de 8 meses de idade. Excluem-se desse teste os animais cujo destino final seja o abate (animais de corte), fêmeas de até 24 meses, desde que vacinadas entre 3 e 8 meses de idade, os animais castrados e os animais procedentes de estabelecimento de criação livre de brucelose.

Teste de tuberculose: machos e fêmeas com idade igual ou superior a 6 semanas. Excluem-se desse teste os animais cujo destino final seja o abate (animais de corte) e aqueles provenientes de estabelecimento de criação livre de tuberculose.

48. QUANDO ELES DEVEM SER TESTADOS?

Até 60 dias antes do transporte ou do início do evento.

49. QUAL O PRAZO DE VALIDADE DOS TESTES DE BRUCELOSE E TUBERCULOSE?

Valem por 60 dias.

50. QUAL A DOCUMENTAÇÃO NECESSÁRIA PARA TRÂNSITO INTERESTADUAL DE ANIMAIS DESTINADOS À REPRODUÇÃO?

Para fins de trânsito interestadual de machos e de fêmeas, das espécies bovina e bubalina, destinados à reprodução, é obrigatória a apresentação de testes NEGATIVOS para brucelose e tuberculose.

Para a tuberculose, os animais devem ser testados a partir das 6 semanas de idade e, para a brucelose, a partir dos 8 meses de idade (machos e fêmeas não vacinadas).

No caso de fêmeas de até 24 meses de idade e VACINADAS contra brucelose, é necessário que conste na GTA a vacinação contra brucelose, que será comprovada na Unidade Veterinária Local onde o documento de trânsito foi emitido.

Ficam excluídos dos testes os animais oriundos de estabelecimento de criação livre de brucelose e tuberculose ou monitorado para brucelose e tuberculose.

Certificação de Estabelecimento de Criação Livre de Brucelose e Tuberculose

51. É OBRIGATÓRIA?

Não. A certificação é voluntária.

52. COMO INICIAR O PROCESSO DE CERTIFICAÇÃO?

É preciso ter um médico veterinário habilitado que se responsabilizará pelo saneamento da propriedade. O proprietário, então, deverá solicitar formalmente a certificação junto à Unidade Veterinária Local do serviço oficial de defesa sanitária animal do Estado onde o estabelecimento se encontra cadastrado.

53. QUEM FAZ A CERTIFICAÇÃO?

É o MAPA, juntamente com o serviço oficial de defesa sanitária animal do Estado.

54. ONDE A CERTIFICAÇÃO TEM VALIDADE?

Em todo o território nacional.

55. A CERTIFICAÇÃO TEM PRAZO DE VALIDADE?

Sim. A validade é de 12 meses, sendo, portanto, necessária a revalidação, conforme o Regulamento do PNCEBT.

56. QUEM EMITE O DOCUMENTO DE ESTABELECIMENTO CERTIFICADO?

É o MAPA, juntamente com o serviço oficial de defesa sanitária animal do Estado.

57. QUAIS AS MEDIDAS PARA CERTIFICAR UM ESTABELECIMENTO DE CRIAÇÃO COMO LIVRE DE BRUCELOSE E TUBERCULOSE?

Ter assistência técnica de um médico veterinário habilitado e custear as atividades de controle da brucelose e tuberculose.

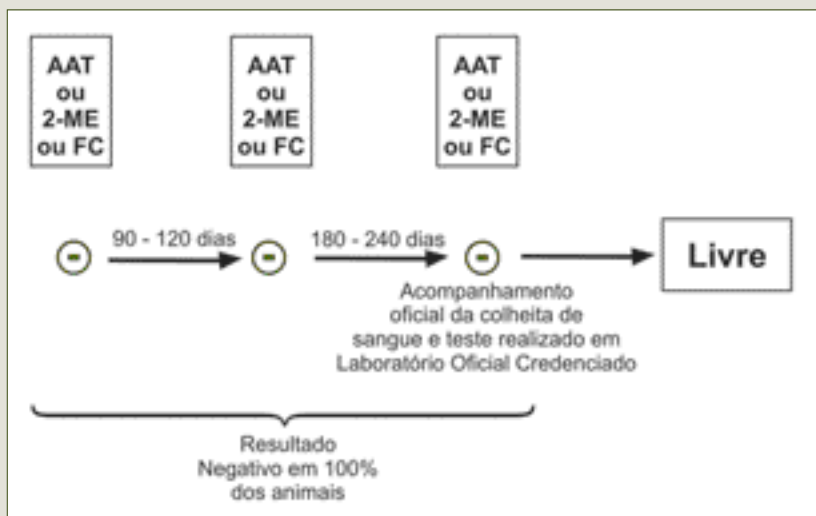
Utilizar sistema de identificação individual dos animais indicado pelo MAPA, ou, na ausência deste, possuir sistema de identificação animal próprio, desde que aprovado localmente pelo serviço oficial de defesa sanitária animal.

Vacinar todas as fêmeas bovinas e bubalinas entre 3 e 8 meses de idade contra brucelose.

Para brucelose: realizar testes de todo o rebanho, num intervalo de 30 a 90 dias entre testes, até que se obtenha resultado negativo em todos os animais testados. Todos os reagentes positivos deverão ser sacrificados ou destruídos; após essa etapa, deverá ser obtido um segundo teste de rebanho negativo com intervalo de 90 a 120 dias (do primeiro) e um terceiro teste de rebanho negativo com intervalo de 180 a 240 dias (do segundo). No último exame, a colheita deverá ser acompanhada pelo serviço oficial de defesa sanitária animal e os testes realizados em laboratório oficial credenciado. Obtidos os 3 testes de rebanho NEGATIVOS CONSECUTIVOS, o estabelecimento de criação estará apto a receber o certificado de LIVRE de brucelose (Esquema 3).

Esquema 3

Etapas de saneamento – Brucelose



AAT – Teste do Antígeno Acidificado Tamponado

2-ME – Teste do 2-Mercaptoetanol

FC – Teste de Fixação de Complemento

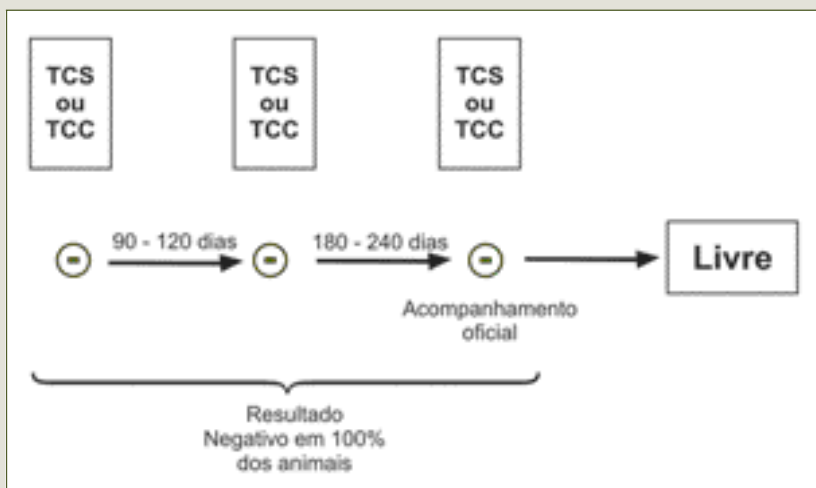
Quando o rebanho sofre uma reinfecção, perde temporariamente o certificado. Nesse caso, poderá recuperar a condição de livre após a obtenção de dois testes de rebanho negativos,

realizados com intervalo de 30 a 90 dias, sendo o primeiro realizado 30 a 90 dias após o sacrifício ou destruição do último animal reagente positivo.

Para tuberculose: deverão ser realizados testes de rebanho com intervalo de 90 a 120 dias entre testes, até que se obtenha resultado NEGATIVO em todos os animais testados. Todos os reagentes positivos deverão ser sacrificados ou destruídos; após essa etapa, deverá ser obtido um segundo teste de rebanho negativo com intervalo de 90 a 120 dias (do primeiro) e um terceiro teste de rebanho negativo com intervalo de 180 a 240 dias (do segundo), sendo este último acompanhado pelo serviço oficial de defesa sanitária animal. Obtendo-se os 3 testes CONSECUTIVOS NEGATIVOS, a propriedade estará apta a receber o certificado de LIVRE de tuberculose (Esquema 4).

Esquema 4

Etapas de saneamento – Tuberculose



TCS: Teste Cervical Simples

TCC: Teste Cervical Comparativo

Obs: Os estabelecimentos de criação com rebanho de corte que optem pela certificação de livre de tuberculose, poderão, ainda, utilizar o Teste da Prega Caudal (TPC).

Quando o rebanho se reinfecta, perde temporariamente o certificado. Neste caso, poderá recuperar a condição de livre após obtenção de dois testes de rebanho negativos, realizados com

intervalo de 90 a 120 dias, sendo o primeiro realizado 90 a 120 dias após o sacrifício ou destruição do último animal reagente positivo.

58. O ESTABELECIMENTO DE CRIAÇÃO PODE SER CERTIFICADO COMO LIVRE PARA BRUCELOSE OU PARA TUBERCULOSE SEPARADAMENTE?

Sim. O certificado será emitido separadamente, conforme o progresso do saneamento para cada enfermidade. Porém, o saneamento deverá ser feito, obrigatoriamente para ambas as doenças, até que se alcance a certificação de estabelecimento de criação livre para brucelose e tuberculose.

59. QUAL O TEMPO MÍNIMO PARA UMA PROPRIEDADE OBTER O CERTIFICADO?

É de 270 dias, ou seja, 9 meses aproximadamente.

60. QUAIS SÃO AS CONDIÇÕES PARA INGRESSO DE ANIMAIS EM PROPRIEDADES CERTIFICADAS OU EM PROCESSO DE CERTIFICAÇÃO COMO LIVRE DE BRUCELOSE E TUBERCULOSE?

Que sejam oriundos de outra propriedade LIVRE de brucelose e/ou de tuberculose. Caso contrário, os animais devem apresentar dois testes consecutivos NEGATIVOS para brucelose e/ou tuberculose.

Brucelose: o primeiro teste deve ser feito na origem, 30 dias antes do embarque, e o segundo até 30 dias após a chegada no destino. Os animais devem ser mantidos isolados até o segundo resultado negativo. Caso não seja possível mantê-los isolados no destino, os dois testes poderão ser efetuados na origem, com intervalo de 30 a 60 dias entre testes.

Tuberculose: o primeiro teste deve ser feito na origem, 30 dias antes do embarque, e o segundo até 90 dias após a chegada no destino, num intervalo mínimo de 60 dias entre testes. Os animais devem ser mantidos isolados até o segundo resultado negativo. Caso não seja possível mantê-los isolados no destino, os dois testes poderão ser efetuados na origem durante os 90 dias que antecedem o embarque, com intervalo mínimo de 60 dias entre testes.

Certificação de Estabelecimento de Criação Monitorado para Brucelose e Tuberculose

61. É OBRIGATÓRIA?

Não. A adesão é voluntária.

62. COMO INICIAR O PROCESSO DE CERTIFICAÇÃO?

É preciso ter um médico veterinário habilitado que se responsabilizará pelo saneamento da propriedade. O proprietário deverá, então, solicitar formalmente a certificação junto à Unidade Veterinária Local do serviço oficial de defesa sanitária animal do Estado onde o estabelecimento se encontra cadastrado.

63. QUEM FAZ A CERTIFICAÇÃO?

É o MAPA, juntamente com o serviço oficial de defesa sanitária animal do Estado.

64. QUAIS ESTABELECIMENTOS PODERÃO SER CERTIFICADOS COMO MONITORADOS?

Somente os estabelecimentos especializados em pecuária de corte.

65. A CERTIFICAÇÃO TEM PRAZO DE VALIDADE?

Sim. A validade é de 12 meses, sendo, portanto, necessária a revalidação, conforme o determinado pelo Regulamento Técnico do PNCEBT.

66. QUEM EMITE O DOCUMENTO DE ESTABELECIMENTO CERTIFICADO?

É o MAPA, juntamente com o serviço oficial de defesa sanitária animal do Estado.

67. QUAIS AS MEDIDAS PARA CERTIFICAR UM ESTABELECIMENTO DE CRIAÇÃO MONITORADO PARA BRUCELOSE E TUBERCULOSE?

O estabelecimento de criação deve ter assistência técnica de um médico veterinário habilitado e custear as atividades de controle da brucelose e tuberculose.

Deve utilizar o sistema de identificação individual dos animais indicado pelo MAPA, ou, na ausência deste, possuir um sistema de identificação animal próprio, desde que aprovado localmente pelo serviço oficial de defesa sanitária animal.

Vacinar todas as fêmeas bovinas e bubalinas entre 3 e 8 meses de idade contra brucelose.

Deve realizar testes de brucelose e tuberculose por amostragem aleatória. Quando forem detectados animais reagentes positivos nos testes por amostragem, ou quando for isolado o agente da tuberculose bovina em lesões detectadas na inspeção *post-mortem* durante o abate, todas as fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses e todos os machos reprodutores devem ser submetidos a testes de diagnóstico, destinando os reagentes positivos ao sacrifício ou destruição.

Os testes de rebanho por amostragem devem ser realizados em intervalos de 10 a 12 meses. Depois de terem sido realizados dois testes de rebanho por amostragem, com resultados negativos, os testes de tuberculose passam a ser realizados em intervalos de 18 a 24 meses.

O certificado será emitido após a obtenção de um teste com 100% da amostragem inicial negativa. Caso existam animais positivos, o certificado somente poderá ser emitido após o exame de todas as fêmeas a partir de 24 meses de idade e machos reprodutores, não incluídos na amostragem inicial, com a destruição/sacrifício de todos os positivos.

68. QUAL A CONDUTA EM CASO DE SEREM DETECTADAS LESÕES SUGESTIVAS DE TUBERCULOSE AO EXAME POST-MORTEM DE ANIMAIS ORIUNDOS DE ESTABELECIMENTOS DE CRIAÇÃO MONITORADOS?

O Serviço de Inspeção Oficial do estabelecimento de abate deverá enviar amostras das lesões suspeitas a laboratório indicado pelo Departamento de Saúde Animal. Confirmando-se infecção por *Mycobacterium bovis*, a Unidade Veterinária Local do serviço oficial de defesa sanitária animal será comunicada e determinará que o estabelecimento de criação de origem dos animais proceda a teste

de diagnóstico para tuberculose em todas as fêmeas a partir de 24 meses de idade e em todos os machos reprodutores. Todos os animais reagentes positivos devem ser destinados ao sacrifício ou à destruição.

69. QUANDO UM ESTABELECIMENTO DE CRIAÇÃO PODE OBTER O CERTIFICADO DE MONITORADO?

Após testar a amostra de animais reprodutores (machos e fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses) e obtiver todos os resultados negativos ou, em caso de diagnosticar reagentes positivos, todo o restante do plantel de reprodutores for submetido a teste e forem eliminados todos os animais reagentes positivos.

70. O ESTABELECIMENTO DE CRIAÇÃO PODE SER CERTIFICADO COMO MONITORADO PARA BRUCELOSE OU PARA TUBERCULOSE SEPARADAMENTE?

Não. A certificação de estabelecimento de criação monitorado será feita de modo obrigatório para brucelose e tuberculose simultaneamente.

71. O QUE É PRECISO PARA INGRESSO DE ANIMAIS EM ESTABELECIMENTO DE CRIAÇÃO CERTIFICADO COMO MONITORADO?

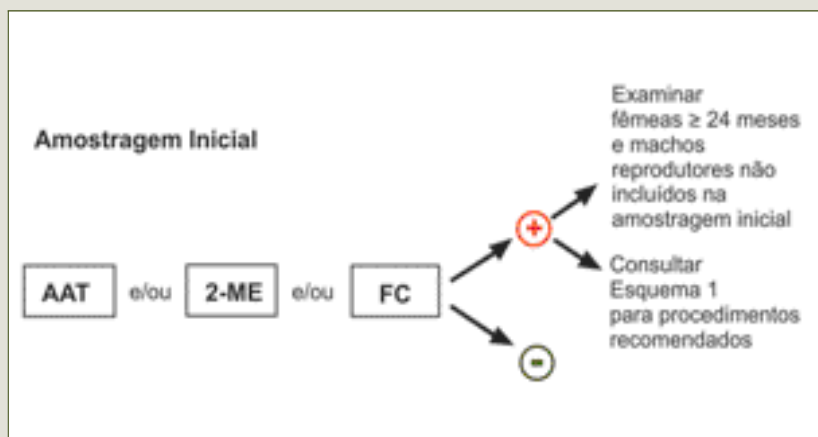
Que sejam oriundos de estabelecimento de criação LIVRE de brucelose ou MONITORADO para brucelose e tuberculose ou que tenham, no mínimo, dois testes consecutivos NEGATIVOS para brucelose. O primeiro teste deve ser feito na origem, durante os 30 dias que antecedem o embarque, e o segundo, ser feito até 30 dias após a chegada no destino, num intervalo mínimo de 30 dias entre testes. Os animais devem ser mantidos isolados até o segundo resultado negativo.

Que sejam oriundos de estabelecimento de criação LIVRE de tuberculose ou MONITORADO para brucelose e tuberculose ou que tenham, no mínimo, dois testes consecutivos NEGATIVOS para tuberculose. O primeiro teste deve ser feito na origem, durante os 30 dias que antecedem o embarque, e o segundo, até 90 dias

após a chegada no destino, num intervalo mínimo de 60 dias entre testes. Os animais devem ser mantidos isolados até o segundo resultado negativo.

Esquema 5

Etapa de testes para obtenção do certificado de monitorado para Brucelose:



AAT: Teste do Antígeno Acidificado Tamponado

2-ME: Teste do 2-Mercaptoetanol

FC: Teste de Fixação de Complemento

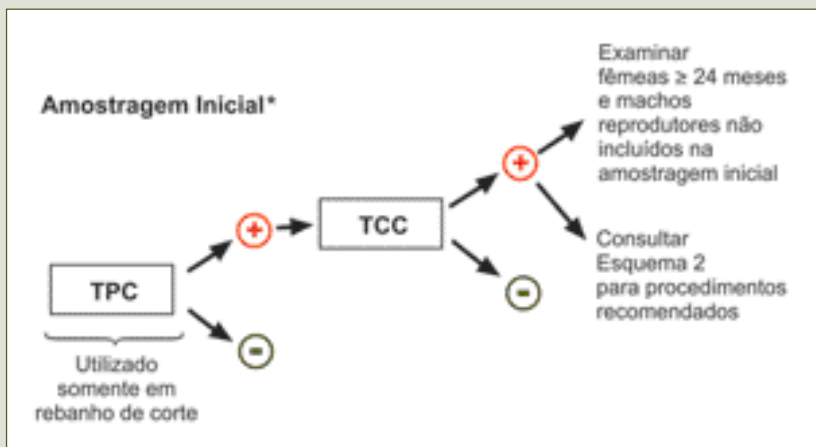
Se um animal da amostragem inicial (ver Tabela 1, pág. 139) apresentar resultado positivo, todas as fêmeas a partir de 24 meses de idade e machos reprodutores não incluídos nessa amostragem deverão ser examinados.

O certificado será emitido após a obtenção de um teste com 100% da amostragem inicial negativa. Caso existam animais positivos, o certificado somente poderá ser emitido após o exame de todas as fêmeas a partir de 24 meses de idade e machos reprodutores não incluídos na amostragem inicial, com a destruição/sacrifício de todos os positivos.

A repetição periódica do teste será realizada utilizando tabela para esta finalidade (ver Tabela 2, pág. 139), em intervalos de 10 a 12 meses.

Esquema 6

Etapa de testes para obtenção do certificado de monitorado para tuberculose:



*A critério do proprietário e/ou do veterinário habilitado, a amostragem inicial poderá ser testada utilizando o TCS ou TCC.

TPC: Teste da Prega Caudal

TCS: Teste Cervical Simples

TCC: Teste Cervical Comparativo

Se algum animal da amostragem inicial (ver Tabela 1, pág. 139) apresentar resultado positivo no TPC, será realizado o TCC. Caso esse teste seja positivo, todas as fêmeas a partir de 24 meses de idade e machos reprodutores não incluídos nessa amostragem deverão ser examinados.

O certificado será emitido após a obtenção de um teste, com 100% da amostragem inicial negativa. Caso existam animais positivos, o certificado somente poderá ser emitido após o exame de todas as fêmeas a partir de 24 meses de idade e machos reprodutores não incluídos na amostragem inicial, com a destruição/sacrifício de todos os positivos.

As repetições do teste por amostragem (ver Tabela 2, pág. 139) serão realizadas 10 a 12 meses após o primeiro teste. Após obter-se dois resultados negativos consecutivos em todos os animais testados, a repetição periódica do teste será efetuada em intervalos de 18 a 24 meses.

Seleção de Animais a Serem Testados

Tabela 1 – Tabela de amostragem para o teste inicial em estabelecimento de criação monitorado (Art. 74 - Regulamento PNCEBT)

Número de fêmeas a partir de 24 meses de idade e de machos reprodutores existentes no estabelecimento	Número de fêmeas a partir de 24 meses de idade e de machos reprodutores que devem ser testados (*)
≤ 350	255
351 – 500	300
501 – 750	350
751 – 1500	400
1501 – 5000	440
> 5000	460

(*) Parâmetros de amostragem: 1) probabilidade de detecção de um ou mais animais reagentes (grau de confiança) = 99%; 2) percentagem mínima esperada de animais reagentes no rebanho = 1%.

Tabela 2 – Tabela de amostragem para a repetição periódica do teste em estabelecimento de criação monitorado (Art.75 - Regulamento PNCEBT)

Número de fêmeas a partir de 24 meses de idade e de machos reprodutores existentes no estabelecimento	Número de fêmeas a partir de 24 meses de idade e de machos reprodutores que devem ser testados (*)
≤ 350	200
351 – 500	225
501 – 750	250
751 – 1500	270
1501 – 5000	290
> 5000	300

(*) Parâmetros de amostragem: 1) probabilidade de detecção de um ou mais animais reagentes (grau de confiança) = 95%; 2) percentagem mínima esperada de animais reagentes no rebanho = 1%.

Uma vez separados os animais na faixa etária específica para colheita de sangue, é necessário fazer uma seleção aleatória dos que serão testados. Para tanto, deverá ser empregado o método exemplificado no quadro abaixo, conhecido como amostragem aleatória sistemática.

Amostragem aleatória sistemática

Em uma amostragem aleatória sistemática, são sorteados **n** animais, pertencentes a uma população composta por um total de **N** animais. Em primeiro lugar, sorteia-se um número aleatório menor ou igual a **N/n** ao acaso. Depois são sorteados animais em intervalos regulares iguais a **N/n**.

Exemplo: para obter uma amostra de **300 (n)** animais com mais de 2 anos, em um rebanho composto por 6000 (**N**) animais com mais de 2 anos de idade. Sortear um número ao acaso entre 1 e 20 (**$N/n = 6000/300 = 20$**), por exemplo **05**.

Sangrar o animal **nº 05 pela ordem de passagem** no brete; depois, testar mais 299 animais em intervalos de 20: 25, 45, 65, 85, 105, 125, 145, 165, ... (até 6.000).

LEGISLAÇÃO PNCEBT

Conteúdo

- Instrução Normativa Ministerial nº 02/2001 141
– Institui o PNCEBT
- Instrução Normativa SDA nº 06/2004 142
– Regulamento Técnico do PNCEBT
- Portaria SDA nº 10/2003 176
– Institui o Comitê Científico Consultivo
sobre brucelose e tuberculose animal (CCBT)
- Portaria DDA nº 73/2003 177
– Estabelece a composição do Comitê Científico Consultivo
sobre brucelose (*B. abortus*) e tuberculose animal (*M. bovis*)
- Portaria DDA nº 11/2004 178
– Exclui o Estado de Santa Catarina da obrigatoriedade de
vacinação das fêmeas bovinas e bubalinas contra a brucelose
- Instrução Normativa SDA nº 59/2004 179
– Altera o artigo 32 do Regulamento Técnico do PNCEBT

Obs: 1 - O conteúdo aqui apresentado não substitui os textos originais publicados no DOU.

2 - Outras normas complementares podem não constar desta coletânea.

Instrução Normativa nº 2, de 10 de janeiro de 2001

O MINISTRO DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 87, parágrafo único, inciso II, da Constituição, tendo em vista o disposto no Regulamento de Defesa Sanitária Animal, aprovado pelo Decreto nº 24.548, de 3 de julho de 1934, e o que consta do Processo nº 21000.006179/2000-97, resolve:

Art. 1º Instituir o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal.

Art. 2º Atribuir ao Secretário de Defesa Agropecuária a incumbência de baixar o Regulamento Técnico do Programa e expedir as instruções necessárias à plena implementação das atividades de combate às supracitadas doenças no País.

Art. 3º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 4º Fica revogada a Portaria nº 23, de 20 de janeiro de 1976.

MARCUS VINICIUS PRATINI DE MORAES

Publicada no DOU nº 08, de 11 de janeiro de 2001, Seção I, p. 5

Instrução Normativa SDA nº 06, de 8 de janeiro de 2004

O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA, DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 15, inciso II, do Decreto 4.629, de 21 de março de 2003, tendo em vista o disposto no Regulamento do Serviço de Defesa Sanitária Animal, aprovado pelo Decreto nº 24.548, de 3 de julho de 1934,

Considerando a necessidade de padronizar e garantir a qualidade dos instrumentos e das ações profiláticas, de diagnóstico, de saneamento de rebanhos e de vigilância sanitária ativa, relacionadas ao combate à brucelose e à tuberculose,

Considerando a necessidade de definir o papel dos órgãos públicos de defesa e inspeção sanitária animal no combate a essas enfermidades e sua integração com os pecuaristas, com instituições de ensino ou pesquisa, com médicos veterinários que atuam no setor privado e com laboratórios não pertencentes à rede do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, e o que consta do Processo 21000.012771/2003-71, resolve:

Art. 1º Aprovar o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal.

Art. 2º Subdelegar ao Diretor do Departamento de Defesa Animal competência, no que couber, para baixar atos complementares a este Regulamento.

Art. 3º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 4º Fica revogada a Instrução Normativa SDA nº 2, de 10 de janeiro de 2001.

MAÇAO TADANO

Publicada no DOU nº 07, de 12 de janeiro de 2004, Seção 1, p. 6-10.

Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal

Capítulo I Das Definições

Art. 1º Para efeitos deste Regulamento, considera-se:

I – brucelose: zoonose causada pela *Brucella abortus*, caracterizada por causar infertilidade e aborto no final da gestação, afetando principalmente as espécies bovina e bubalina;

II – tuberculose: zoonose de evolução crônica, causada pelo *Mycobacterium bovis*, que provoca lesões granulomatosas, afetando principalmente as espécies bovina e bubalina;

III – serviço de defesa oficial: é o serviço de defesa sanitária animal, nos níveis federal, estadual ou municipal;

IV – unidade local do serviço de defesa oficial: escritório do serviço de defesa animal estadual que, sob coordenação de médico veterinário oficial, é responsável pelas ações de vigilância e atenção veterinária em um ou mais municípios;

V – serviço de inspeção oficial: é o serviço de inspeção de produtos de origem animal, nos níveis federal, estadual ou municipal;

VI – sacrifício: é o abate sanitário de animais reagentes aos testes de diagnóstico para brucelose ou tuberculose, realizado em estabelecimento sob serviço de inspeção oficial, de acordo com a legislação pertinente;

VII – destruição: é o procedimento de eliminação de animais reagentes aos testes de diagnóstico para brucelose ou tuberculose no próprio estabelecimento de criação, obedecendo a critérios definidos pelo Departamento de Defesa Animal;

VIII – estabelecimento de criação: local onde são criados bovinos ou bubalinos sob condições comuns de manejo;

IX – estabelecimento de criação em certificação: estabelecimento de criação que está cumprindo os procedimentos de saneamento previstos neste Regulamento, visando obter o certificado de livre de brucelose e tuberculose;

X – estabelecimento de criação livre de brucelose: estabelecimento de criação que obteve certificado de livre de brucelose após concluir saneamento para esta enfermidade e mantém rotina de diagnóstico prevista neste Regulamento;

XI – estabelecimento de criação livre de tuberculose: estabelecimento de criação que obteve certificado de livre de tuberculose após concluir saneamento para esta enfermidade e mantém rotina de diagnóstico, prevista neste Regulamento;

XII – estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose: estabelecimento de criação especializado em pecuária de corte que mantém rotina de diagnóstico, em fêmeas com idade igual ou superior a 24 (vinte e quatro) meses e em machos reprodutores, de acordo com o previsto neste Regulamento;

XIII – laboratório credenciado: laboratório que recebe, por delegação de competência do Departamento de Defesa Animal, ato de credenciamento para realização de diagnóstico laboratorial de brucelose ou tuberculose;

XIV – laboratório oficial credenciado: laboratório de instituição federal, estadual ou municipal, que tenha sido credenciado pelo Departamento de Defesa Animal, para realizar diagnóstico laboratorial de brucelose ou tuberculose;

XV – laboratório de referência: laboratório pertencente à rede do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;

XVI – médico veterinário cadastrado: médico veterinário que atua no setor privado, cadastrado no serviço de defesa oficial estadual para executar a vacinação contra a brucelose ou outras

atividades previstas no Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal;

XVII – médico veterinário habilitado: é o médico veterinário que atua no setor privado e que, aprovado em Curso de Treinamento em Métodos de Diagnóstico e Controle da Brucelose e Tuberculose, reconhecido pelo Departamento de Defesa Animal, está apto a executar determinadas atividades previstas no Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal, sob a supervisão do serviço de defesa oficial estadual e federal;

XVIII – médico veterinário oficial: médico veterinário do serviço de defesa oficial;

XIX – proprietário: é todo aquele que seja possuidor, depositário ou, a qualquer título, mantenha em seu poder ou sob sua guarda bovinos ou bubalinos;

XX – rebanho: conjunto de animais criados sob condições comuns de manejo, em um mesmo estabelecimento de criação;

XXI – animais de rebanho geral: animais não registrados em entidades reconhecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;

XXII – animais registrados: animais de valor zootécnico, registrados em entidades reconhecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;

XXIII – teste de rotina: é o primeiro teste de diagnóstico para brucelose ou tuberculose, usualmente aplicado em grande número de animais com condição sanitária desconhecida para aquelas enfermidades, visando identificar animais com suspeita de infecção ou obter diagnóstico conclusivo;

XXIV – teste(s) confirmatório(s): um ou mais testes utilizados para obter diagnóstico conclusivo em animais que apresentaram previamente reação em teste de rotina;

XXV – teste de rebanho: um ou mais testes de diagnóstico aplicados simultaneamente em todos os animais presentes num rebanho, excluindo-se aqueles que, de acordo com este Regulamento, não devem ser submetidos a testes de diagnóstico para brucelose ou tuberculose;

XXVI – prevalência: número total de animais infectados em um determinado momento, dividido pelo número total de animais em risco de adquirir a infecção, no mesmo momento;

XXVII – incidência: número de novos casos de animais infectados em uma determinada população, durante um período de tempo especificado;

XXVIII – sensibilidade de diagnóstico: capacidade de um teste de diagnóstico classificar como positivos animais infectados;

XXIX – especificidade de diagnóstico: capacidade de um teste de diagnóstico classificar como negativos animais não infectados.

Capítulo II

Dos Objetivos do Programa e da Estratégia de Atuação

Art. 2º O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal tem como objetivos específicos:

I – baixar a prevalência e a incidência da brucelose e da tuberculose;

II – certificar um número elevado de estabelecimentos de criação, nos quais o controle e erradicação destas enfermidades sejam executados com rigor e eficácia, objetivando aumentar a oferta de produtos de baixo risco para a saúde pública.

Art. 3º A estratégia de atuação do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal é baseada na adoção de procedimentos de defesa sanitária animal compulsórios, complementados por medidas de adesão voluntária que visam proteger a saúde pública e desenvolver os fundamentos de ações futuras para a erradicação dessas enfermidades. Considerando a epidemiologia da brucelose e da tuberculose, as medidas sanitárias deste Programa são principalmente aplicadas à população de bovinos e bubalinos, devendo ser destacadas:

I – a vacinação obrigatória de fêmeas, entre três e oito meses de idade, contra a brucelose, que visa baixar a prevalência e a incidência desta enfermidade;

II – o controle do trânsito interestadual de animais destinados à reprodução e da participação de machos e fêmeas reprodutores

em exposições, feiras, leilões e outras aglomerações animais, com o objetivo de evitar a disseminação da brucelose e da tuberculose;

III – a certificação voluntária de estabelecimentos de criação livres de brucelose e tuberculose, nos quais são aplicadas rigorosas medidas de saneamento e vigilância sanitária ativa, que contribuirão para combater essas doenças, para melhorar o padrão sanitário dos produtos de origem animal, principalmente do leite e derivados, e para agregar valor aos produtos da pecuária;

IV – a certificação voluntária de estabelecimentos de criação monitorados para brucelose e tuberculose, que procura os mesmos objetivos definidos no inciso anterior, porém utilizando procedimentos de gestão de risco adaptados às condições de manejo e ao tamanho dos rebanhos de corte.

Art. 4º Para execução de atividades previstas neste Programa, o serviço de defesa oficial habilitará médicos veterinários que atuam no setor privado e credenciará laboratórios que não pertencem à rede do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sendo necessário capacitar os profissionais envolvidos e padronizar as ações por eles desenvolvidas.

§ 1º Para habilitação de médicos veterinários, serão reconhecidos e padronizados cursos específicos de treinamento em métodos de diagnóstico e controle da brucelose e tuberculose, realizados em instituições de ensino ou pesquisa em medicina veterinária.

§ 2º O Departamento de Defesa Animal credenciará laboratórios privados e oficiais para garantir capacidade de diagnóstico adequada às necessidades deste Programa.

Art. 5º A eficácia das ações sanitárias depende da qualidade e padronização dos métodos de diagnóstico e dos instrumentos profiláticos utilizados. Este Programa contempla e padroniza técnicas disponíveis no país e referenciadas pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), que garantem sensibilidade e especificidade de diagnóstico adequadas. Prevê-se a possibilidade de introduzir novos testes de diagnóstico e vacinas, de forma a acompanhar os avanços científicos e tecnológicos.

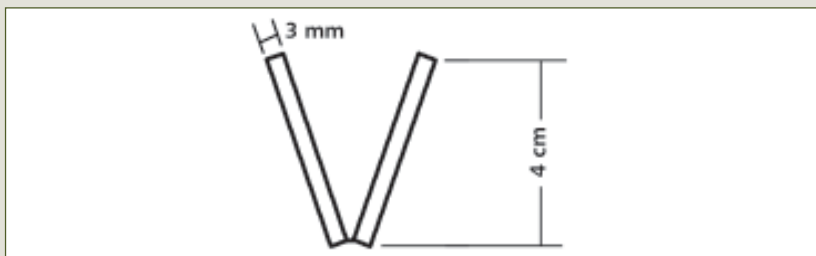
Art. 6º A credibilidade das medidas propostas neste Programa está diretamente associada às ações de monitoramento

e fiscalização do serviço de defesa oficial, realizadas em colaboração com o serviço de inspeção oficial. O serviço de defesa oficial certificará a qualidade e eficácia das medidas sanitárias, atuando em pontos críticos do Programa.

Capítulo III Da Vacinação Contra a Brucelose

Art. 7º É obrigatória a vacinação de todas as fêmeas das espécies bovina e bubalina, na faixa etária de três a oito meses.

§ 1º A marcação das fêmeas vacinadas é obrigatória, utilizando-se ferro candente, no lado esquerdo da cara, com um V, conforme figura a seguir, acompanhado do algarismo final do ano de vacinação.



§ 2º Excluem-se do disposto no § 1º as fêmeas destinadas ao Registro Genealógico, quando devidamente identificadas, e as fêmeas identificadas individualmente por meio de sistema aprovado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Art. 8º A vacinação será efetuada sob a responsabilidade técnica de médico veterinário cadastrado, utilizando dose única de vacina viva liofilizada, elaborada com amostra 19 de *Brucella abortus* (B19).

Parágrafo único. Onde não houver médicos veterinários cadastrados ou em regiões onde eles não atenderem plenamente a demanda do PNCEBT, o serviço de defesa oficial poderá assumir a responsabilidade técnica ou mesmo a execução da vacinação.

Art. 9º O cadastro de médicos veterinários será gratuito.

Art. 10. É proibida a utilização da vacina B19 em machos de qualquer idade e em fêmeas com idade superior a 8 (oito) meses.

Art. 11. É obrigatória a comprovação da vacinação das bezerras na unidade local do serviço de defesa oficial, no mínimo uma vez por semestre.

Parágrafo único. A comprovação da vacinação será feita por meio de atestado emitido por médico veterinário cadastrado, de acordo com normas e usando modelo a ser definido pelo Departamento de Defesa Animal.

Art. 12. A vacinação de fêmeas com idade superior a oito meses poderá ser autorizada com imunógenos que não interferem nos testes de diagnóstico, nas condições definidas pelo Departamento de Defesa Animal.

Art. 13. O Diretor do Departamento de Defesa Animal poderá alterar as estratégias e normas de vacinação de acordo com a evolução da situação epidemiológica dos Estados ou parte deles.

Capítulo IV

Da Produção, Controle e Comercialização de Vacinas Contra a Brucelose

Art. 14. A produção e o controle de todas as partidas de vacina liofilizada obedecerão às normas do Departamento de Defesa Animal.

Art. 15. Para comercialização de vacina será exigida a apresentação de receita emitida por médico veterinário cadastrado, a qual ficará retida no estabelecimento comercial à disposição da fiscalização do serviço de defesa oficial.

Parágrafo único. O estabelecimento responsável pela comercialização da vacina fica obrigado a comunicar a compra, venda e estoque de vacina, na unidade local do serviço de defesa oficial estadual, utilizando modelo estabelecido pelo Departamento de Defesa Animal.

Art. 16. A demanda anual de vacinas em cada Estado deverá ser notificada pelo serviço de defesa oficial estadual ao serviço de defesa oficial federal no Estado, até o mês de novembro do ano anterior.

Capítulo V

Da Produção, Controle e Distribuição de Antígenos para Diagnóstico de Brucelose

Art. 17. Os antígenos a serem utilizados nos testes sorológicos para diagnóstico de brucelose serão o antígeno acidificado tamponado, o antígeno para soroaglutinação lenta e o antígeno para o teste do anel em leite, produzidos e controlados segundo normas aprovadas pelo Departamento de Defesa Animal.

Parágrafo único. Outros antígenos poderão ser utilizados para diagnóstico de brucelose, após aprovação e nas condições definidas pelo Departamento de Defesa Animal.

Art. 18. A distribuição de antígenos será controlada pelo serviço de defesa oficial, devendo os mesmos ser fornecidos somente a médicos veterinários habilitados, a laboratórios credenciados, a laboratórios oficiais credenciados e a instituições de ensino ou pesquisa.

§ 1º O médico veterinário habilitado responsável pela aquisição do antígeno deverá fornecer ao serviço de defesa oficial relatório de utilização do mesmo, segundo condições a serem definidas pelo Departamento de Defesa Animal.

§ 2º A partir da data de publicação deste Regulamento, até 31 de julho de 2004, médicos veterinários cadastrados serão autorizados a adquirir antígeno para diagnóstico sorológico de brucelose, respeitando as condições estabelecidas pelo Departamento de Defesa Animal.

Capítulo VI

Do Diagnóstico Indireto da Brucelose

Art. 19. A realização de testes de diagnóstico indireto para brucelose deverá obedecer a este Regulamento e seguir recomendações complementares determinadas pelo Departamento de Defesa Animal.

Art. 20. Os testes sorológicos de diagnóstico para brucelose serão realizados em:

I – fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses, vacinadas entre três e oito meses de idade;

II – fêmeas não vacinadas e machos, com idade superior a oito meses.

§ 1º Fêmeas submetidas a testes sorológicos de diagnóstico para brucelose no intervalo de 15 dias antes do parto até 15 dias após o parto deverão ser retestadas entre 30 a 60 dias após o parto.

§ 2º Excluem-se dos testes sorológicos de diagnóstico para brucelose os animais castrados.

Art. 21. O teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) será utilizado como teste de rotina, de acordo com as seguintes condições e critérios:

I – ser realizado por médico veterinário habilitado, por laboratório credenciado, por laboratório oficial credenciado ou, até 31 de julho de 2004, por médico veterinário cadastrado;

II – a presença de qualquer aglutinação classificará o animal como reagente ao teste;

III – animais não reagentes são considerados negativos;

IV – animais reagentes poderão ser submetidos a teste confirmatório ou, a critério do médico veterinário habilitado, ser destinados ao sacrifício ou destruição, conforme o disposto no Capítulo IX.

Art. 22. O teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME) será utilizado como teste confirmatório, em animais reagentes ao teste do AAT, de acordo com as seguintes condições e critérios:

I – ser realizado por laboratório credenciado ou laboratório oficial credenciado;

II – a interpretação do teste obedecerá às Tabelas 1 e 2:

Tabela 1 – Interpretação do teste do 2-ME para fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses, vacinadas entre três e oito meses de idade

Teste de sorologiação lenta (UI/ml)	Teste do 2-ME (UI/ml)	Interpretação
≤ 50	< 25	negativo
≥ 100	< 25	inconclusivo
≥ 25	≥ 25	positivo

UI - Unidade Internacional

Tabela 2 – Interpretação do teste do 2-ME para fêmeas não vacinadas e machos, com idade superior a oito meses

Teste de sorologiação lenta (UI/ml)	Teste do 2-ME (UI/ml)	Interpretação
≤ 25	< 25	negativo
≥ 50	< 25	inconclusivo
≥ 25	≥ 25	positivo

UI - Unidade Internacional

III – animais reagentes inconclusivos poderão ser, a critério do médico veterinário habilitado:

- a) submetidos ao teste de fixação de complemento; ou
- b) retestados em um intervalo de 30 a 60 dias, usando o teste do 2-ME, sendo classificados como reagentes positivos se apresentarem, no reteste, resultado positivo ou segundo resultado inconclusivo; ou
- c) destinados ao sacrifício ou destruição, conforme o disposto no Capítulo IX.

Art. 23. O teste de Fixação de Complemento será utilizado como teste confirmatório, realizado e interpretado de acordo com recomendações do Departamento de Defesa Animal, e deverá ser:

- I – realizado por laboratório oficial credenciado;

II – utilizado para o trânsito internacional de animais;
III – utilizado para teste de animais reagentes ao teste do AAT ou de animais que apresentaram resultado inconclusivo ao teste do 2-ME.

Art. 24. O Teste do Anel em Leite (“TAL”) poderá ser utilizado pelo serviço de defesa oficial, ou por médico veterinário habilitado, para monitoramento de estabelecimentos de criação certificados como livres de brucelose, ou para outros fins, segundo critérios estabelecidos pelo serviço de defesa oficial.

§ 1º Considera-se o resultado do teste como positivo quando a intensidade da cor do anel for igual ou maior que a da coluna de leite.

§ 2º Considera-se o resultado do teste como negativo quando a intensidade da cor do anel for menor que a da coluna de leite.

§ 3º Em casos de positividade, os animais do estabelecimento de criação deverão ser submetidos a testes sorológicos individuais para diagnóstico de brucelose.

Art. 25. Outros testes de diagnóstico para brucelose poderão ser utilizados para complementar ou substituir os testes especificados nos arts. 21, 22, 23 e 24, após aprovação e nas condições estabelecidas pelo Departamento de Defesa Animal.

Capítulo VII

Da Produção, Controle e Distribuição de Tuberculinas

Art. 26. Serão utilizadas somente tuberculinas PPD (Derivado Protéico Purificado) bovina e aviária, produzidas e controladas de acordo com normas estabelecidas pelo Departamento de Defesa Animal.

Art. 27. O controle da distribuição de tuberculinas será efetuado pelo serviço de defesa oficial, devendo as mesmas ser fornecidas somente a médicos veterinários habilitados e a instituições de ensino ou pesquisa.

§ 1º O médico veterinário habilitado responsável pela aquisição da tuberculina deverá fornecer ao serviço de defesa oficial relatório de utilização da mesma, segundo condições a serem definidas pelo Departamento de Defesa Animal.

§ 2º A partir da data de publicação deste Regulamento até 31 de julho de 2004, médicos veterinários cadastrados serão autorizados a adquirir tuberculina, respeitando as condições estabelecidas pelo Departamento de Defesa Animal.

Capítulo VIII

Do Diagnóstico Indireto da Tuberculose

Art. 28. Para o diagnóstico indireto da tuberculose, serão utilizados testes alérgicos de tuberculinização intradérmica em bovinos e bubalinos com idade igual ou superior a seis semanas, a serem realizados por médico veterinário habilitado ou, até 31 de julho de 2004, por médico veterinário cadastrado.

Parágrafo único. Fêmeas submetidas a teste de diagnóstico para tuberculose no intervalo de 15 dias antes do parto até 15 dias após o parto deverão ser retestadas entre 60 a 90 dias após o parto, obedecendo a um intervalo mínimo de 60 dias entre testes.

Art. 29. É obrigatória a utilização de material próprio para tuberculinização, seguindo as determinações do Departamento de Defesa Animal.

Art. 30. O Teste Cervical Simples (TCS) é o teste de rotina recomendado, observando-se as seguintes condições e critérios:

I – deve ser realizado com inoculação intradérmica de tuberculina PPD bovina, na dosagem de 0,1 mL, na região cervical ou na região escapular de bovinos, devendo a inoculação ser efetuada de um mesmo lado de todos os animais do estabelecimento de criação;

II – o local da inoculação será demarcado por tricotomia e a espessura da dobra da pele medida com cutímetro antes da inoculação;

III – após 72 horas, mais ou menos 6 horas da inoculação, será realizada nova medida da dobra da pele, no local de inoculação da tuberculina PPD bovina;

IV – o aumento da espessura da dobra da pele (ΔB) será calculado subtraindo-se da medida da dobra da pele 72 horas, mais ou menos 6 horas, após a inoculação, a medida da dobra da pele no dia da inoculação da tuberculina PPD bovina;

V – os resultados em bovinos serão interpretados de acordo com a Tabela 3:

Tabela 3 – Interpretação do teste cervical simples em bovinos

ΔB (mm)	Características da reação			Interpretação
	Sensibilidade	Consistência	Outras alterações	
0 a 1,9	–	–	–	negativo
2,0 a 3,9	pouca dor	endurecida	delimitada	inconclusivo
2,0 a 3,9	muita dor	macia	exsudato, necrose	positivo
$\geq 4,0$	–	–	–	positivo

VI – os animais reagentes inconclusivos poderão ser submetidos a teste confirmatório, em um intervalo de 60 a 90 dias ou, a critério do médico veterinário habilitado, ser considerados positivos e destinados ao sacrifício ou à destruição, conforme o disposto no Capítulo IX;

Art. 31. O teste da prega caudal (TPC) pode ser utilizado como teste de rotina, exclusivamente em estabelecimentos de criação especializados na pecuária de corte e de acordo com as seguintes condições e critérios:

I – a tuberculina (PPD) bovina será inoculada por via intradérmica na dosagem de 0,1 mL, seis a dez centímetros da base da cauda, na junção das peles pilosa e glabra, devendo a inoculação ser efetuada de um mesmo lado da prega caudal de todos os animais do estabelecimento de criação;

II – a leitura e interpretação dos resultados serão realizadas 72 horas, mais ou menos 6 horas, após a inoculação da tuberculina, comparando-se a prega inoculada com a prega do lado oposto, por avaliação visual e palpação;

III – qualquer aumento de espessura na prega inoculada classificará o animal como reagente;

IV – os animais reagentes poderão ser submetidos a teste confirmatório, num intervalo de 60 a 90 dias, ou, a critério do médico veterinário habilitado, ser destinados ao sacrifício ou destruição, conforme o disposto no Capítulo IX.

Art. 32. O Teste Cervical Comparativo (TCC) é o teste confirmatório utilizado em animais inconclusivos ao Teste Cervical Simples e reagentes ao Teste da Prega Caudal, descritos nos arts. 30 e 31. É também recomendado como teste de rotina para estabelecimentos de criação com ocorrência de reações inespecíficas, estabelecimentos certificados como livres e para estabelecimentos de criação de bubalinos, visando garantir boa especificidade diagnóstica, devendo ser utilizado de acordo com as seguintes condições e critérios:

I – as inoculações das tuberculinas PPD aviária e bovina serão realizadas por via intradérmica, na dosagem de 0,1 mL, na região cervical ou na região escapular, a uma distância entre as duas inoculações de 15 a 20 cm, sendo a PPD aviária inoculada cranialmente e a PPD bovina caudalmente, devendo a inoculação ser efetuada de um mesmo lado de todos os animais do estabelecimento de criação;

II – os locais das inoculações serão demarcados por tricotomia e a espessura da dobra da pele medida com cutímetro, antes da inoculação;

III – após 72 horas, mais ou menos 6 horas, da inoculação, será realizada nova medida da dobra da pele, no local de inoculação das tuberculinas PPD aviária e bovina;

IV – o aumento da espessura da dobra da pele será calculado subtraindo-se da medida da dobra da pele 72 horas, mais ou menos 6 horas, após a inoculação, a medida da dobra da pele no dia da

inoculação para a tuberculina PPD aviária (ΔA) e a tuberculina PPD bovina (ΔB). A diferença de aumento da dobra da pele provocada pela inoculação da tuberculina PPD bovina (ΔB) e da tuberculina PPD aviária (ΔA) será calculada subtraindo-se ΔA de ΔB .

V – os resultados do teste comparativo em bovinos serão interpretados de acordo com a Tabela 4:

Tabela 4 – Interpretação do teste cervical comparativo em bovinos

	$\Delta B - \Delta A$ (mm)	Interpretação
$\Delta B < 2,0$	–	negativo
$\Delta B < \Delta A$	< 0	negativo
$\Delta B \geq \Delta A$	0,0 a 1,9	negativo
$\Delta B > \Delta A$	2,0 a 3,9	inconclusivo
$\Delta B > \Delta A$	$\geq 4,0$	positivo

VI – os animais reagentes inconclusivos poderão ser submetidos a um segundo teste cervical comparativo, num intervalo mínimo de 60 dias entre os testes, ou, a critério do médico veterinário habilitado, ser considerados positivos e destinados ao sacrifício ou à destruição, conforme disposto no Capítulo IX;

VII – os animais que apresentarem dois resultados inconclusivos consecutivos serão classificados como reagentes positivos;

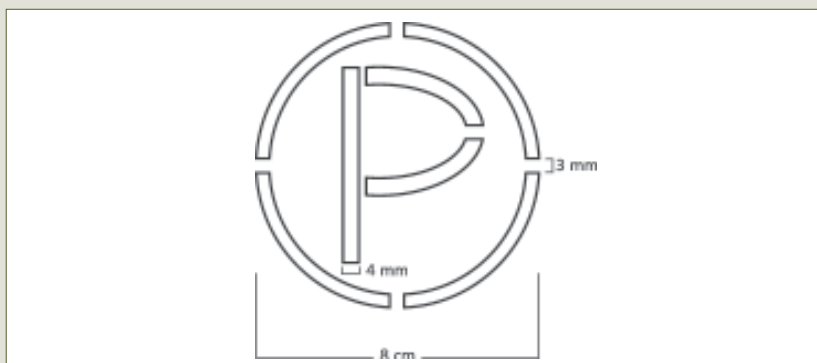
VIII – os resultados em bubalinos poderão ser interpretados de acordo com a Tabela 4, até a determinação de critérios de interpretação específicos para essa espécie.

Art. 33. Outros testes de diagnóstico para tuberculose poderão ser utilizados para complementar ou substituir os testes especificados nos arts. 30, 31 e 32, após aprovação e nas condições estabelecidas pelo Departamento de Defesa Animal.

Capítulo IX

Dos Animais Reagentes Positivos aos Testes de Diagnóstico para Brucelose ou Tuberculose

Art. 34. Animais reagentes positivos a teste de diagnóstico para brucelose ou tuberculose serão marcados a ferro candente no lado direito da cara com um "P" contido num círculo de oito centímetros de diâmetro, conforme figura a seguir.



Art. 35. Animais reagentes positivos deverão ser isolados de todo o rebanho e sacrificados no prazo máximo de 30 (trinta) dias após o diagnóstico, em estabelecimento sob serviço de inspeção oficial, indicado pelo serviço de defesa oficial federal ou estadual.

§ 1º Animais reagentes positivos deverão ser imediatamente afastados da produção leiteira.

§ 2º O serviço de inspeção oficial do estabelecimento onde será realizado o sacrifício deverá ser notificado da chegada dos animais com antecedência mínima de 12 horas, de forma a permitir a adoção das medidas previstas na legislação pertinente.

§ 3º Animais reagentes positivos deverão chegar ao estabelecimento de abate acompanhados de Guia de Trânsito Animal (GTA), informando condição de positivo, conforme previsto na legislação pertinente.

Art. 36. Na impossibilidade de sacrifício em estabelecimento sob serviço de inspeção oficial, indicado pelo serviço de defesa oficial federal e estadual, os animais serão destruídos no estabelecimento de criação, sob fiscalização direta da unidade local

do serviço de defesa oficial, respeitando procedimentos estabelecidos pelo Departamento de Defesa Animal.

Art. 37. É proibido o egresso de animais reagentes positivos e de animais reagentes inconclusivos do estabelecimento de criação, salvo quando comprovadamente destinados ao sacrifício em estabelecimento sob serviço de inspeção oficial, indicado pelo serviço de defesa oficial federal ou estadual.

Capítulo X

Da Habilitação e da Capacitação de Médicos Veterinários

Art. 38. As Delegacias Federais de Agricultura, em conjunto com os serviços de defesa sanitária animal dos Estados, habilitarão médicos veterinários que atuam no setor privado para a realização de testes de diagnóstico e atuação no processo de certificação de propriedades, na respectiva Unidade da Federação.

Art. 39. O médico veterinário habilitado deverá:

I – estar em situação regular com o Conselho de Medicina Veterinária da(s) Unidade(s) Federativa(s) de atuação;

II – ter sido aprovado em Curso de Treinamento em Métodos de Diagnóstico e Controle da Brucelose e Tuberculose, reconhecido pelo Departamento de Defesa Animal;

III – cumprir este Regulamento e outras normas complementares estabelecidas pelo Departamento de Defesa Animal;

IV – possuir infra-estrutura e material adequado à execução dos testes de diagnóstico para brucelose e tuberculose, conforme determinação do Departamento de Defesa Animal;

V – fornecer informações e apresentar relatórios de atividade, relacionados com o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal, na unidade local do serviço de defesa oficial, com periodicidade e em modelos estabelecidos pelo Departamento de Defesa Animal.

Art. 40. A habilitação será suspensa pela Delegacia Federal de Agricultura em caso de descumprimento deste Regulamento

ou de outras normas estabelecidas em legislação sanitária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Art. 41. Médicos veterinários oficiais deverão ser capacitados e aprovados em Curso de Treinamento em Métodos de Diagnóstico e Controle da Brucelose e Tuberculose, reconhecido pelo Departamento de Defesa Animal.

Capítulo XI

Do Reconhecimento de Cursos de Treinamento para Habilitação e Capacitação de Médicos Veterinários

Art. 42. As instituições de ensino ou pesquisa em medicina veterinária interessadas em oferecer Cursos de Treinamento em Métodos de Diagnóstico e Controle da Brucelose e Tuberculose, com o objetivo de capacitar e permitir a habilitação de médicos veterinários que desejem participar do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal deverão preencher todos os requisitos definidos pelo Departamento de Defesa Animal.

Art. 43. Cada Curso de Treinamento em Métodos de Diagnóstico e Controle da Brucelose e Tuberculose terá a duração mínima de 40 horas, não podendo ser excedido o número de 20 participantes.

Art. 44. As matérias teórico-práticas lecionadas no Curso de Treinamento em Métodos de Diagnóstico e Controle da Brucelose e Tuberculose deverão estar em conformidade com este Regulamento e com outras normas complementares estabelecidas pelo Departamento de Defesa Animal.

Art. 45. A aprovação no Curso de Treinamento em Métodos de Diagnóstico e Controle da Brucelose e Tuberculose fica condicionada à avaliação teórico-prática.

Art. 46. O Departamento de Defesa Animal realizará seminários sobre o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal, com o objetivo de habilitar médicos veterinários instrutores dos cursos de treinamento em

métodos de diagnóstico e controle da brucelose e tuberculose e de padronizar procedimentos.

Capítulo XII

Do Credenciamento de Laboratórios para o Diagnóstico de Brucelose e de Tuberculose

Art. 47. O Departamento de Defesa Animal credenciará laboratórios privados, aos quais serão delegadas funções de diagnóstico para brucelose ou tuberculose, cabendo-lhe determinar quais os testes de diagnóstico que serão realizados nesses laboratórios e quais os requisitos necessários para obter o credenciamento.

Art. 48. O Departamento de Defesa Animal credenciará laboratórios oficiais, aos quais serão delegadas funções de diagnóstico para brucelose ou tuberculose, cabendo-lhe determinar quais os testes de diagnóstico que serão realizados nesses laboratórios e quais os requisitos necessários para obter o credenciamento.

Capítulo XIII

Dos Laboratórios de Referência

Art. 49. O Departamento de Defesa Animal designará laboratórios de referência para brucelose e tuberculose que deverão:

I – ser responsáveis pela produção de antígenos de brucelose e tuberculinas de referência ou para utilização em programas ou em situações excepcionais de interesse do Departamento de Defesa Animal;

II – realizar técnicas diretas e indiretas de diagnóstico para brucelose e tuberculose em situações a serem definidas pelo Departamento de Defesa Animal;

III – efetuar o controle oficial das partidas de antígenos de brucelose e tuberculinas produzidas no país;

IV – controlar a qualidade das vacinas comerciais contra a brucelose;

V – realizar o isolamento e a caracterização epidemiológica de amostras de campo em situações a serem definidas pelo Departamento de Defesa Animal;

VI – executar e colaborar em trabalhos de pesquisa e avaliar novos métodos de diagnóstico e novas vacinas.

Art. 50. Os laboratórios de referência deverão fornecer amostras padrão para a produção de antígenos, alérgenos e imunógenos.

Capítulo XIV

Das Disposições Gerais para Estabelecimento de Criação Certificado, ou em Certificação, para a Condição de Livre de Brucelose e de Tuberculose

Art. 51. O certificado de estabelecimento de criação livre de brucelose ou de tuberculose será emitido pela Delegacia Federal de Agricultura.

Art. 52. A certificação de estabelecimento de criação livre de brucelose e de tuberculose é de adesão voluntária, devendo ser formalmente solicitada na unidade local do serviço de defesa oficial, na qual o estabelecimento de criação encontra-se cadastrado.

Art. 53. O estabelecimento de criação certificado, ou em certificação, para a condição de livre de brucelose e tuberculose fica obrigado a:

I – cumprir medidas de controle e erradicação da brucelose e da tuberculose, previstas neste Regulamento;

II – ter supervisão técnica de médico veterinário habilitado;

III – utilizar sistema de identificação individual dos animais, indicado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento ou, na ausência deste, possuir sistema de identificação animal próprio, desde que aprovado pelo serviço de defesa oficial;

IV – custear as atividades de controle e erradicação da brucelose e da tuberculose.

Art. 54. O ingresso de animais em estabelecimento de criação certificado, ou em certificação, para a condição de livre de brucelose e tuberculose fica condicionado a:

I – terem origem em estabelecimento de criação livre de brucelose ou realizar 2 (dois) testes de diagnóstico para brucelose, cumprindo os seguintes requisitos:

a) os dois testes deverão ter resultado negativo;

b) o primeiro teste deverá ser realizado durante os 30 (trinta) dias que antecedem o embarque e o segundo teste até 30 (trinta) dias após o ingresso no estabelecimento de criação de destino, num intervalo mínimo de 30 dias entre testes, sendo que os animais deverão permanecer isolados desde o ingresso no estabelecimento até o segundo resultado negativo;

c) caso não seja possível manter os animais isolados no estabelecimento de criação de destino, os dois testes poderão ser efetuados durante os 60 dias que antecedem o embarque, num intervalo de 30 a 60 dias entre testes;

d) os testes serão realizados por médico veterinário habilitado, por laboratório credenciado ou por laboratório oficial credenciado;

e) fêmeas de até 24 meses de idade, vacinadas entre três e oito meses de idade, só podem ingressar no estabelecimento de criação se forem provenientes de estabelecimento de criação livre de brucelose.

II - terem origem em estabelecimento de criação livre de tuberculose ou realizarem dois testes de diagnóstico para tuberculose, cumprindo os seguintes requisitos:

a) os dois testes deverão ter resultado negativo;

b) o primeiro teste deverá ser realizado durante os 30 (trinta) dias que antecedem o embarque e o segundo teste até 90 dias após o ingresso no estabelecimento de criação de destino, num intervalo mínimo de 60 dias entre testes, sendo que os animais deverão permanecer isolados desde o ingresso no estabelecimento até o segundo resultado negativo;

c) caso não seja possível manter os animais isolados no estabelecimento de criação de destino, os dois testes poderão ser efetuados durante os 90 dias que antecedem o embarque, num intervalo mínimo de 60 dias entre testes;

d) os testes serão realizados por médico veterinário habilitado.

Art. 55. O médico veterinário oficial poderá, em qualquer momento e sem ônus para o proprietário, colher material biológico para testes de diagnóstico para brucelose ou tuberculose e acompanhar ou realizar testes de diagnóstico para tuberculose, com o objetivo de verificar e validar a condição sanitária do estabelecimento de criação certificado, ou em certificação.

Capítulo XV

Do Saneamento para Certificação de Estabelecimento de Criação Livre de Brucelose

Art 56. O estabelecimento de criação que entra em saneamento para obter certificado de livre de brucelose deve cumprir as medidas seguintes:

I – realizar testes de rebanho para diagnóstico de brucelose, num intervalo de 30 a 90 dias entre testes, até obter um resultado negativo, sendo que os animais reagentes positivos deverão ser sacrificados ou destruídos, conforme o disposto no Capítulo IX;

II – o saneamento termina após obter-se 3 (três) testes de rebanho negativos consecutivos, num intervalo de 90 a 120 dias entre o primeiro e o segundo testes e de 180 a 240 dias entre o segundo e o terceiro testes;

III – animais com reação inconclusiva aos testes de diagnóstico para brucelose deverão ser isolados de todo o rebanho e retestados 30 a 60 dias após o teste anterior;

IV – a colheita de sangue para realização do terceiro teste de rebanho, especificado no inciso II, deverá ser acompanhada por médico veterinário do serviço de defesa oficial estadual e os testes deverão ser efetuados em laboratório oficial credenciado, cabendo ao médico veterinário habilitado informar à unidade local do serviço de defesa oficial a data da colheita de sangue, com antecedência mínima de 15 dias.

Capítulo XVI

Da Certificação de Estabelecimento de Criação Livre de Brucelose

Art. 57. O certificado de estabelecimento de criação livre de brucelose será emitido pela Delegacia Federal de Agricultura, condicionado ao cumprimento dos requisitos seguintes:

I – todas as fêmeas, entre três e oito meses de idade, devem ser vacinadas contra a brucelose com vacina B19;

II – devem submeter-se a testes de diagnóstico para brucelose todos os animais especificados no art. 20;

III – obter três testes de rebanho negativos consecutivos, realizados com intervalo de 90 a 120 dias entre o primeiro e o segundo testes e de 180 a 240 dias entre o segundo e o terceiro testes.

Art. 58. O certificado de estabelecimento de criação livre de brucelose tem validade de 12 (doze) meses.

Art. 59. A renovação do certificado de estabelecimento de criação livre de brucelose deverá ser requerida anualmente na unidade local do serviço de defesa oficial, apresentando resultado negativo nos testes de diagnóstico para brucelose, realizados em todos os animais especificados no art. 20.

Art. 60. O médico veterinário habilitado deverá informar à unidade local do serviço de defesa oficial a data de colheita de sangue para realização dos testes mencionados no art. 59, com antecedência mínima de 15 dias.

Art. 61. A renovação do certificado pode ser prorrogada por um período máximo de 90 dias, quando da necessidade de realizar novo teste de diagnóstico para brucelose em animais que apresentem resultado inconclusivo no reteste anual.

Art. 62. A detecção de um ou mais animais reagentes positivos em teste realizado por médico veterinário habilitado ou por médico veterinário oficial ou após confirmação de suspeita

clínica resultará na suspensão temporária do certificado de estabelecimento de criação livre de brucelose. Para retorno à condição de livre é necessário obter 2 (dois) testes de rebanho negativos, realizados com intervalo de 30 a 90 dias, sendo o primeiro efetuado 30 a 90 dias após o sacrifício ou destruição do último animal reagente positivo.

Parágrafo único. A colheita de sangue para realização do segundo teste de rebanho, para retorno à condição de livre, deverá ser acompanhada por médico veterinário do serviço de defesa oficial estadual e os testes deverão ser efetuados em laboratório oficial credenciado. O médico veterinário habilitado deverá informar à unidade local do serviço de defesa oficial a data da colheita de sangue, com antecedência mínima de 15 dias.

Capítulo XVII

Do Saneamento para Certificação de Estabelecimento de Criação Livre de Tuberculose

Art. 63. O estabelecimento de criação que entra em saneamento para obter certificado de livre de tuberculose deve cumprir as medidas seguintes:

I – realizar testes de rebanho para diagnóstico de tuberculose em todos os animais especificados no art. 28, num intervalo de 90 a 120 dias entre testes, até obter um teste de rebanho negativo, sendo os animais reagentes positivos sacrificados ou destruídos, conforme o disposto no Capítulo IX;

II – o saneamento termina após obter-se três testes de rebanho negativos consecutivos, num intervalo de 90 a 120 dias entre o primeiro e o segundo testes e de 180 a 240 dias entre o segundo e o terceiro testes;

III – animais com reações inconclusivas aos testes de diagnóstico para tuberculose deverão ser isolados de todo o rebanho e retestados 60 a 90 dias após o teste anterior;

IV – a realização do terceiro teste de rebanho, especificado no inciso II, deverá ser acompanhada por médico veterinário do serviço de defesa oficial estadual, cabendo ao médico veterinário

habilitado informar à unidade local do serviço de defesa oficial a data do teste, com antecedência mínima de 15 dias.

Capítulo XVIII

Da Certificação de Estabelecimento de Criação Livre de Tuberculose

Art. 64. O certificado de estabelecimento de criação livre de tuberculose será emitido pela Delegacia Federal de Agricultura, condicionado à obtenção de três testes de rebanho negativos consecutivos, realizados num intervalo de 90 a 120 dias entre o primeiro e o segundo testes e de 180 a 240 dias entre o segundo e o terceiro testes.

Art. 65. O certificado de estabelecimento de criação livre de tuberculose tem validade de 12 (doze) meses.

Art. 66. A renovação do certificado de estabelecimento de criação livre de tuberculose deverá ser requerida anualmente na unidade local do serviço de defesa oficial, apresentando resultado negativo nos testes de diagnóstico para tuberculose, realizados em todos os animais com idade igual ou superior a seis semanas.

Art. 67. O médico veterinário habilitado deverá informar à unidade local do serviço de defesa oficial a data de realização dos testes mencionados no art. 66, com antecedência mínima de 15 dias.

Art. 68. A renovação do certificado pode ser prorrogada por um período máximo de 90 dias quando da necessidade de realizar novo teste de diagnóstico para tuberculose em animais que apresentem resultado inconclusivo no reteste anual.

Art. 69. A detecção de um ou mais animais reagente(s) positivo(s) em teste realizado por médico veterinário habilitado ou por médico veterinário oficial, ou após confirmação de suspeita clínica, resultará na suspensão temporária do certificado de estabelecimento de criação livre de tuberculose. Para retorno à condição de livre é

necessário obter dois testes de rebanho negativos, realizados com intervalo de 90 a 120 dias, sendo o primeiro realizado 90 a 120 dias após o sacrifício ou destruição do último animal reagente positivo.

Parágrafo único. A realização do segundo teste de rebanho, para retorno à condição de livre, deverá ser acompanhada por médico veterinário do serviço de defesa oficial estadual. O médico veterinário habilitado deverá informar à unidade local do serviço de defesa oficial a data da realização do teste, com antecedência mínima de 15 dias.

Art. 70. A detecção de lesões sugestivas de tuberculose durante a inspeção sanitária *post-mortem* de animais provenientes de estabelecimento de criação livre de tuberculose implica no envio de amostras de lesões suspeitas ao laboratório indicado pelo Departamento de Defesa Animal e, em se confirmando infecção por *Mycobacterium bovis*, todos os animais de idade igual ou superior a seis semanas devem ser submetidos a testes de diagnóstico para tuberculose, destinando os reagentes positivos ao sacrifício ou destruição, aplicando-se o disposto no art. 69.

Capítulo XIX

Da Certificação de Estabelecimento de Criação Monitorado para Brucelose e Tuberculose

Art. 71. O certificado de estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose será emitido pela Delegacia Federal de Agricultura.

Art. 72. A certificação de estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose é de adesão voluntária e restrita a estabelecimentos de criação especializados em pecuária de corte, devendo ser formalmente solicitada na unidade local do serviço de defesa oficial, na qual o estabelecimento de criação encontra-se cadastrado.

Art. 73. O estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose fica obrigado a:

I – cumprir medidas de controle e erradicação da brucelose e da tuberculose, previstas neste Regulamento;

II – ter supervisão técnica de médico veterinário habilitado;
III – utilizar sistema de identificação individual das fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses e dos machos reprodutores, indicado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ou, na ausência deste, possuir sistema de identificação animal próprio, desde que aprovado pelo serviço de defesa oficial;

IV – vacinar todas as fêmeas entre três e oito meses de idade contra a brucelose, com vacina B19;

V – submeter a testes de diagnóstico para brucelose e tuberculose as fêmeas de idade igual ou superior a 24 meses e os machos reprodutores, sacrificando ou destruindo os animais reagentes positivos, de acordo com o disposto no Capítulo IX;

VI – custear as atividades de controle da brucelose e da tuberculose.

Art. 74. O primeiro teste de diagnóstico para brucelose e tuberculose efetuado no estabelecimento de criação monitorado será realizado por amostragem, conforme a Tabela 5, sendo os animais escolhidos por método aleatório:

Tabela 5 – Tabela de amostragem para o teste inicial em estabelecimento de criação monitorado, segundo o número de fêmeas a partir de 24 meses de idade e de machos reprodutores existentes no estabelecimento

Existentes	Devem ser testados (*)
≤ 350	255
351 – 500	300
501 – 750	350
751 – 1500	400
1501 – 5000	440
> 5000	460

(*) Parâmetros de amostragem: (1) probabilidade de detecção de um ou mais animais reagentes (grau de confiança) = 99%; (2) porcentagem mínima esperada de animais reagentes no rebanho = 1%.

Art. 75. Após o primeiro teste por amostragem, especificado no art. 74, o estabelecimento de criação deverá manter rotina de diagnóstico, realizando reteste periódico também por amostragem, nas seguintes condições:

I – os testes de diagnóstico para brucelose devem ser realizados num intervalo de 10 a 12 meses;

II – os testes de diagnóstico para tuberculose devem ser realizados num intervalo de 10 a 12 meses, até obter-se dois resultados negativos consecutivos em todos os animais testados, passando então a ser realizados num intervalo de 18 a 24 meses;

III – o reteste periódico será realizado de acordo com a Tabela 6:

Tabela 6 – Tabela de amostragem para o reteste periódico em estabelecimento de criação monitorado, segundo o número de fêmeas a partir de 24 meses de idade e de machos reprodutores existentes no estabelecimento

Existentes	Devem ser testados (*)
≤ 350	200
351 – 500	225
501 – 750	250
751 – 1500	270
1501 – 5000	290
> 5000	300

(*) Parâmetros de amostragem: (1) probabilidade de detecção de um ou mais animais reagentes (grau de confiança) = 95%; (2) porcentagem mínima esperada de animais reagentes no rebanho = 1%.

Art. 76. No caso de serem detectados um ou mais animais reagentes positivos aos testes de diagnóstico para brucelose durante as amostragens, especificadas nos arts. 74 e 75, em outro teste realizado sob responsabilidade de médico veterinário habilitado ou oficial, ou após confirmação de suspeita clínica, todas as fêmeas a partir de 24 meses de idade e todos os machos

reprodutores, não incluídos na amostra inicial, devem ser testados para essa enfermidade.

Art. 77. No caso de serem detectados um ou mais animais reagentes positivos aos testes de diagnóstico para tuberculose durante as amostragens, especificadas nos arts. 74 e 75, em outro teste realizado por médico veterinário habilitado ou oficial, ou após confirmação de suspeita clínica, todas as fêmeas a partir de 24 meses de idade e todos os machos reprodutores, não incluídos na amostra inicial, devem ser testados para essa enfermidade.

Art. 78. O certificado de estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose tem validade de 12 meses e será emitido após a obtenção de um teste com 100% da amostragem inicial negativa. Caso existam animais positivos, o certificado somente poderá ser emitido após o exame de todas as fêmeas maiores de 24 meses de idade e machos reprodutores, não incluídos na amostragem inicial, com a destruição/sacrifício de todos os positivos.

Art. 79. A renovação do certificado de estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose deverá ser requerida anualmente na unidade local do serviço de defesa oficial, apresentando resultado negativo nos testes de diagnóstico realizados e na condição de todos os animais reagentes positivos para brucelose e/ou tuberculose serem sacrificados ou destruídos, conforme o disposto no Capítulo IX.

Parágrafo único. A renovação do certificado pode ser prorrogada por um período máximo de 90 dias, quando da necessidade de realizar novo teste de diagnóstico para brucelose ou tuberculose em animais que apresentem resultados inconclusivos no reteste anual. A prorrogação por igual período poderá ser autorizada se for necessário sacrificar ou destruir animais reagentes positivos.

Art. 80. O médico veterinário habilitado deverá informar à unidade local do serviço de defesa oficial a data de realização dos testes mencionados no art. 79, com antecedência mínima de 15 dias.

Art. 81. A detecção de lesões sugestivas de tuberculose durante a inspeção sanitária *post-mortem* de animais provenientes de estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose implica no envio de amostras de lesões suspeitas ao laboratório indicado pelo Departamento de Defesa Animal e, em se confirmando infecção por *Mycobacterium bovis*, todas as fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses e todos os machos reprodutores devem ser submetidos a testes de diagnóstico para tuberculose, destinando os reagentes positivos ao sacrifício ou destruição, conforme o disposto no Capítulo IX.

Art. 82. O ingresso de fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses e de machos reprodutores em estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose fica condicionado a:

I – terem origem em estabelecimento de criação livre de brucelose ou em estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose ou realizar dois testes de diagnóstico para brucelose, cumprindo os seguintes requisitos:

a) os dois testes deverão ter resultado negativo;

b) o primeiro teste deverá ser realizado durante os 30 dias que antecedem o embarque e o segundo teste até 30 dias após o ingresso no estabelecimento de criação de destino, num intervalo mínimo de 30 dias entre testes, sendo que os animais deverão permanecer isolados desde o ingresso no estabelecimento até o segundo resultado negativo;

c) os testes serão realizados por médico veterinário habilitado, por laboratório credenciado ou por laboratório oficial credenciado.

II – terem origem em estabelecimento de criação livre de tuberculose ou em estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose ou realizar dois testes de diagnóstico para tuberculose, cumprindo os seguintes requisitos:

a) os dois testes deverão ter resultado negativo;

b) o primeiro teste deverá ser realizado durante os 30 dias que antecedem o embarque e o segundo teste até 90 dias após o ingresso no estabelecimento de criação de destino, num intervalo mínimo de 60 dias entre testes, sendo que os animais deverão

permanecer isolados desde o ingresso no estabelecimento até o segundo resultado negativo;

c) os testes serão realizados por médico veterinário habilitado.

Art. 83. O médico veterinário oficial poderá, em qualquer momento e sem ônus para o proprietário, colher material biológico para testes de diagnóstico para brucelose ou tuberculose e acompanhar ou realizar testes de diagnóstico para tuberculose, com o objetivo de verificar e validar a condição sanitária do estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose.

Capítulo XX

Do Controle do Trânsito de Bovinos e Bubalinos

Art. 84. Para fins de trânsito interestadual de machos e de fêmeas, das espécies bovina e bubalina, destinados à reprodução, é obrigatória a apresentação de resultados negativos aos testes de diagnóstico para brucelose e tuberculose, obedecendo ao que se segue:

I – a emissão da Guia de Trânsito Animal (GTA) fica condicionada à apresentação dos atestados de exames negativos para brucelose e tuberculose, emitidos por médico veterinário habilitado ou, até 31 de julho de 2004, por médico veterinário cadastrado, os quais deverão permanecer anexados à via da GTA que acompanha os animais;

II – os testes de diagnóstico devem ter sido realizados por médico veterinário habilitado, por laboratório credenciado, por laboratório oficial credenciado ou, até 31 de julho de 2004, por médico veterinário cadastrado;

III – os atestados de exames negativos para brucelose e tuberculose serão válidos por 60 (sessenta) dias, a contar da data da colheita de sangue para diagnóstico de brucelose e da realização do teste para diagnóstico de tuberculose;

IV – os testes de diagnóstico para brucelose são obrigatórios para os animais especificados no art. 20, excetuando-se os animais com origem em estabelecimento de criação certificado como livre

de brucelose ou em estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose;

V – os testes de diagnóstico para tuberculose são obrigatórios para animais de idade igual ou superior a seis semanas, excetuando-se os animais com origem em estabelecimento de criação certificado como livre de tuberculose ou em estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose.

Parágrafo único. A partir de data a ser determinada pelo Departamento de Defesa Animal, o trânsito interestadual de bovinos e bubalinos destinados à reprodução só será permitido a animais com origem em estabelecimento de criação certificado como livre de brucelose e de tuberculose ou em estabelecimento de criação monitorado para brucelose e tuberculose.

Art. 85. A emissão da GTA para trânsito de bovinos ou bubalinos, qualquer que seja a finalidade, fica condicionada à comprovação de vacinação contra a brucelose no estabelecimento de criação de origem dos animais, de acordo com o disposto no Capítulo III.

Art. 86. O trânsito internacional de animais, sêmen e embriões rege-se-á pelas normas dispostas no Código Zoosanitário Internacional, da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) ou conforme normas especificadas em acordos internacionais firmados.

Capítulo XXI

Da Participação em Exposições, Feiras, Leilões e Outras Aglomerações de Animais

Art. 87. Na emissão da Guia de Trânsito Animal (GTA) para bovinos e bubalinos destinados à participação em exposições, feiras, leilões e outras aglomerações de animais devem ser observados os seguintes requisitos:

I – para a brucelose:

a) atestado com resultado negativo a teste de diagnóstico para brucelose, efetuado até 60 dias antes do início do evento,

para animais acima de oito meses de idade, emitido por médico veterinário habilitado ou, até 31 de julho de 2004, por médico veterinário cadastrado;

b) excluem-se dos testes os animais cujo destino final seja o abate, as fêmeas de até 24 meses de idade, desde que vacinadas entre três e oito meses de idade, os animais castrados e os animais procedentes de estabelecimento de criação livre de brucelose;

c) comprovação de vacinação contra brucelose no estabelecimento de criação de origem dos animais.

II – para a tuberculose:

a) atestado com resultado negativo a teste de diagnóstico para tuberculose, efetuado até 60 dias antes do início do evento, para animais de idade igual ou superior a seis semanas, emitido por médico veterinário habilitado ou, até 31 de julho de 2004, por médico veterinário cadastrado;

b) excluem-se do disposto no item anterior os animais cujo destino final seja o abate e aqueles provenientes de estabelecimento de criação livre de tuberculose.

Art. 88. Animais de rebanho geral destinados à participação em leilões ficam dispensados da apresentação de atestados com resultado negativo, exceto quando o serviço oficial estadual julgar necessário.

Art. 89. A partir de data a ser determinada pelo Departamento de Defesa Animal, a emissão de GTA para participação de bovinos e de bubalinos em exposições, em feiras e em leilões de animais registrados fica condicionada à origem em estabelecimento de criação livre de brucelose e tuberculose.

Capítulo XXII

Do Papel do Serviço de Inspeção Oficial

Art. 90. O serviço de inspeção oficial participa do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal, em colaboração com o serviço de defesa oficial, visando

melhorar a eficácia das ações de vigilância sanitária e de monitoramento deste Programa.

Art. 91. São atribuições específicas do serviço de inspeção oficial:

I – realizar o abate sanitário de animais identificados como positivos para brucelose ou tuberculose;

II – cumprir procedimentos higiênico-sanitários e fazer o julgamento e destinação de carcaças e vísceras, conforme previsto na legislação pertinente;

III – comunicar ao serviço de defesa oficial os achados de matança, em carcaças e vísceras, sugestivos de tuberculose.

Portaria SDA nº 10, de 07 de março de 2003

O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 83, inciso IV, do Regimento Interno da Secretaria, aprovado pela Portaria Ministerial nº 574, de 8 de dezembro de 1998, tendo em vista o disposto no Regulamento do Serviço de Defesa Sanitária Animal, aprovado pelo Decreto nº 24.548, de 3 de julho de 1934, e o que consta do Processo nº 21000.000710/2003-61, resolve:

Art. 1º Instituir o Comitê Científico Consultivo sobre Brucelose (*B.abortus*) e Tuberculose animal (*M. bovis*) – CCBT, cujas atribuições incluirão:

I – fornecer subsídios técnico-científicos ao Departamento de Defesa Animal – DDA;

II – emitir pareceres técnicos;

III – elaborar propostas que visem melhorar o sistema de controle da brucelose (*B.abortus*) e da tuberculose animal (*M. bovis*) no país, com destaque para as normas e métodos de vigilância, profilaxia, diagnóstico e controle dessas enfermidades.

Art. 2º O CCBT será composto por profissionais especializados nas diversas áreas relacionadas à saúde animal, com destaque para a medicina veterinária preventiva, epidemiologia e bioestatística, saúde pública, planejamento de programas e métodos de defesa

sanitária animal, imunologia e técnicas de diagnóstico da brucelose e tuberculose animal.

Art. 3º O Departamento de Defesa Animal – DDA poderá, se necessário, convocar pessoal técnico dos setores público e privado para prestar assessoramento ao CCBT.

Art. 4º O DDA deverá estabelecer a composição do referido Comitê, definir a programação, as regras de funcionamento e indicar seu coordenador.

Art. 5º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

MAÇAO TADANO

Publicada no DOU nº 48, de 11 de março de 2003, Seção I p. 8

Portaria DDA nº 73, de 04 de dezembro de 2003

O DIRETOR DO DEPARTAMENTO DE DEFESA ANIMAL, DA SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA, DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 84, inciso VIII, da Portaria Ministerial nº 574, de 8 de dezembro de 1998, tendo em vista o disposto na Portaria SDA nº 10, de 7 de março de 2003 e o que consta no processo nº 2100.006978/2003-14, resolve:

Art. 1º Estabelecer a composição do Comitê Científico Consultivo sobre Brucelose (*B. abortus*) e Tuberculose animal (*M. bovis*) - CCBT no âmbito do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT), especificando a área de atuação de cada um dos membros constituintes:

I – Andrey Pereira Lage, especialista em medicina veterinária preventiva - Universidade Federal de Minas Gerais;

II – Eliana Roxo, especialista em diagnóstico e controle de brucelose e tuberculose – Instituto Biológico;

III – Ernst Ekehardt Muller, especialista em medicina veterinária preventiva – Universidade Estadual de Londrina;

IV – Fernando Padilla Poester, especialista em brucelose – Consultor do LARA/MG - MAPA;

V – João Crisostomo Mauad Cavalléro, especialista em defesa sanitária animal – DDA/SDA/MAPA;

VI – José Soares Ferreira Neto, especialista em epidemiologia veterinária e zoonoses – Universidade de São Paulo;

VII – Pedro Moacyr Pinto Coelho Motta, especialista em tuberculose - LARA/MG - MAPA;

VIII – Vitor Salvador Picão Gonçalves, especialista em epidemiologia veterinária e programas de saúde animal – Universidade de Brasília.

Art. 2º O Coordenador do CCBT poderá, se necessário, convocar pessoal técnico dos setores público ou privado para prestar-lhe assessoramento.

Art. 3º Deverão ser realizadas três reuniões ordinárias do CCBT por ano, podendo haver convocação de reuniões extraordinárias, desde que justificadas pelo seu Coordenador.

Art. 4º O Comitê Científico Consultivo de que trata o art. 1º será coordenado pelo médico veterinário José Ricardo Lôbo, representante do PNCEBT.

Art. 5º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

JOÃO CRISOSTOMO MAUAD CAVALLÉRO

Publicada no DOU nº 238, de 08 de dezembro de 2003, Seção II p. 4

Portaria DDA nº 11, de 26 de janeiro de 2004

O DIRETOR DO DEPARTAMENTO DE DEFESA ANIMAL, DA SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA, DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 84, inciso VIII, do Regimento Interno da Secretaria, aprovado pela Portaria Ministerial nº 574, de 8 de dezembro de 1998, o art. 13 da Instrução Normativa SDA nº 06, de 8 de janeiro de 2004,

Considerando que o resultado do inquérito soroepidemiológico para brucelose bovina, realizado em 2002 pelas autoridades sanitárias do Estado de Santa Catarina, revelou prevalência muito baixa de propriedades e animais infectados por essa doença;

Considerando que diante da prevalência encontrada a vacinação não trará efeitos benéficos e ainda que o uso da vacina elaborada com amostra B19 possa interferir nos resultados dos testes de diagnóstico, recurso sistematicamente utilizado em áreas em processo de erradicação, e o que consta do Processo nº 21000.013020/2003-71, resolve:

Art. 1º Excluir o Estado de Santa Catarina da obrigatoriedade de vacinação das fêmeas bovinas e bubalinas contra a brucelose.

Art. 2º As ações a serem desenvolvidas nas áreas em processo de erradicação deverão ser definidas em ato normativo específico do Departamento de Defesa Animal - DDA.

Art. 3º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

JOÃO CRISOSTOMO MAUAD CAVALLÉRO

Publicada no DOU nº 20, de 29 de janeiro de 2004, Seção 1, p. 3

Instrução Normativa SDA nº 59, de 24 de agosto de 2004

O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA, DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 15, inciso II, do Anexo I, do Decreto nº 4.629, de 21 de março de 2003, tendo em vista o disposto no Regulamento do Serviço de Defesa Sanitária Animal, aprovado pelo decreto nº 24.548, de 3 de julho de 1934, e que consta do Processo nº 21000.01277/2003-71, resolve:

Art. 1º Alterar, de 31 de julho de 2004 para 31 de julho de 2005, o prazo previsto nos arts. 18, §2º, 21, inciso I, 27, §2º, 28, 84, incisos I e II, 87, incisos I-a e II-a, respectivamente nos capítulos V, VI, VII, VIII, XX e XXI, do Regulamento Técnico do Programa

Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal, aprovado pela Instrução Normativa DAS nº 06, de 8 de janeiro de 2004.

Parágrafo único. Fica facultado ao Serviço de Defesa Oficial de cada Estado estabelecer data anterior a 31 de julho de 2005, prevista no caput deste artigo.

Art. 2º O Art. 32 passa a vigorar com a seguinte redação:

"Art. 32. O teste cervical comparativo (TCC) é o teste confirmatório utilizado em animais reagentes aos testes de rotina, descritos nos arts. 30 e 31. É também recomendado como teste de rotina para estabelecimento de criação com ocorrência de reações inespecíficas, estabelecimentos certificados como livres e para estabelecimentos de criação de bubalinos, visando garantir boa especificidade diagnóstica, devendo ser utilizado com as seguintes condições e critérios:" (NR)

Art. 3º Esta Instrução entra em vigor na data de sua publicação.

MAÇAO TADANO

Publicada no DOU nº 165, de 26 de agosto de 2004, Seção I, p. 10

**ENDEREÇOS DAS SUPERINTENDÊNCIAS
FEDERAIS DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E
ABASTECIMENTO – SFAs
SERVIÇO DE DEFESA SANITÁRIA
AGROPECUÁRIA – SEDESA**

- SFA/AC** ACRE
RODOVIA AC-40, 793 – SEGUNDO DISTRITO
69901-180 – RIO BRANCO/AC
TEL: (68) 3212-1300 / 1324 – FAX: 3212-1313 / 1318
- SFA/AL** ALAGOAS
AVENIDA FERNANDES LIMA, 72
BAIRRO FAROL
57050-000 – MACEIÓ/AL
TEL: (82) 3315-7005 / 7000 – FAX: 3221-7047 / 3315-7026
- SFA/AP** AMAPÁ
RUA TIRADENTES, 469 – BAIRRO CENTRAL
68906-380 – MACAPÁ/AP
TEL: (96) 3223-3075 – FAX: 3222-4467
- SFA/AM** AMAZONAS
RUA MACEIÓ, 460 – ADRIANÓPOLIS
69057-010 – MANAUS/AM
TEL: (92) 3232-8073 / 6129 – FAX: 3232-8073
- SFA/BA** BAHIA
LARGO DOS AFLITOS, S/N – CENTRO
40060-030 – SALVADOR/BA
TEL: (71) 3320-2406 / 7436 – FAX: 3320-7403

- SFA/CE** CEARÁ
AV. DOS EXPEDICIONÁRIOS, 3.442 – BENFICA
60410-410 – FORTALEZA/CE
TEL: (85) 3455-9208 / 9248 – FAX: 3455-9268
- SFA/DF** DISTRITO FEDERAL
SBN QUADRA 01, BLOCO D, 5º ANDAR
ED. PALÁCIO DO DESENVOLVIMENTO
70057-900 – BRASÍLIA/DF
TEL: (61) 3329-7119 / 7118 – FAX: 3326-2565
- SFA/ES** ESPÍRITO SANTO
AV. NOSSA SENHORA DOS NAVEGANTES, 495, 8º ANDAR
EDIFÍCIO CENTRO EMPRESARIAL ENSEADA
ENSEADA DO SUÁ
29050-420 – VITÓRIA/ES
TEL: (27) 3137-2720 / 2732 – FAX: 3137-2747
- SFA/GO** GOIÁS
PRAÇA CÍVICA, 100, 6º ANDAR
CX. POSTAL 149
74003-010 – GOIÂNIA/GO
TEL: (62) 3221-7282 – FAX: 3221-7277
- SFA/MA** MARANHÃO
PRAÇA DA REPÚBLICA, 147 – BAIRRO DIAMANTE
65020-150 – SÃO LUÍS/MA
TEL: (98) 2106-1961 / 1965 – FAX: 2106-1969
- SFA/MG** MINAS GERAIS
AV. RAJA GABAGLIA, 245 – CIDADE JARDIM
30380-090 – BELO HORIZONTE/MG
TEL: (31) 3250-0416 / 0417 – FAX: 3250-0405
- SFA/MT** MATO GROSSO
ALAMEDA DR. ANNIBAL MOLINA, S/N – PORTO
78115-140 – VÁRZEA GRANDE/MT
TEL: (65) 3685-5598 / 1952 – FAX: 3685-1145

- SFA/MS** MATO GROSSO DO SUL
RUA DOM AQUINO, 2.696
79002-970 – CAMPO GRANDE/MS
TEL: (67) 3325-7100 / 8866 – FAX: 3325-7666
- SFA/PA** PARÁ
AV. ALMIRANTE BARROSO, 5.384 – SOUZA
66610-000 – BELÉM/PA
TEL: (91) 3214-8648 / 8647
- SFA/PB** PARAÍBA
BR-230, KM 14, ESTRADA JOÃO PESSOA/CABEDELO
58310-000 – CABEDELO/PB
TEL: (83) 3246-1235 – FAX: 3246-2535
- SFA/PE** PERNAMBUCO
AV. GENERAL SAN MARTIN, 1.000 – BONGI
50630-260 – RECIFE/PE
TEL: (81) 3236-8500 / 8515 – FAX: 3236-8516
- SFA/PI** PIAUÍ
RUA TAUMATURGO DE AZEVEDO, 2.315
64001-340 – TERESINA/PI
TEL: (86) 3222-4545 / 4321 – FAX: 3222-4324
- SFA/PR** PARANÁ
RUA JOSÉ VERÍSSIMO, 420 – TARUMA
82820-000 – CURITIBA/PR
TEL: (41) 3361-4000 / 4082 – FAX: 3366-3260
- SFA/RJ** RIO DE JANEIRO
AV. RODRIGUES ALVES, 129, 8º ANDAR
20081-250 – RIO DE JANEIRO/RJ
TEL: (21) 2253-7507 / 2291-4141 – FAX: 2253-8182
- SFA/RN** RIO GRANDE DO NORTE
AV. HILDEBRANDO DE GÓIS, 150 – RIBEIRA
59010-000 – NATAL/RN
TEL: (84) 3221-1741 / 1742 – FAX: 3221-5698

- SFA/RO** RONDÔNIA
BR-364, KM 5,5
78913-770 – PORTO VELHO/RO
TEL: (69) 3216-5600 / 5610 – FAX: 3222-2460
- SFA/RR** RORAIMA
AV. SANTOS DUMONT, 1.470
BAIRRO APARECIDA
69306-040 – BOA VISTA/RR
TEL: (95) 3623-9603 / 9605 – FAX: 3623-9364
- SFA/RS** RIO GRANDE DO SUL
AV. LOUREIRO DA SILVA, 515, 5º ANDAR
90010-420 – PORTO ALEGRE/RS
TEL: (51) 3284-9513 / 9516 – FAX: 3284-9512
- SFA/SC** SANTA CATARINA
RUA FELIPE SCHIMIDT, 755 – CENTRO
EDIFÍCIO EMBAIXADOR, BLOCO A
CAIXA POSTAL 1.502
88010-002 – FLORIANÓPOLIS/SC
TEL: (48) 3261-9929 / 9930 – FAX: 3261-9931
- SFA/SE** SERGIPE
AV. JOÃO RIBEIRO, 428
BAIRRO SANTO ANTÔNIO
49065-000 – ARACAJU/SE
TEL: (79) 3179-2468 / 2469 – FAX: 3179-2466
- SFA/SP** SÃO PAULO
AV. 13 DE MAIO, 1.558, 3º ANDAR – BELA VISTA
01327-002 – SÃO PAULO/SP
TEL: (11) 3251-0400 / 5742 – FAX: 3287-8988
- SFA/TO** TOCANTINS
AV. NS 1, 201 SUL, CONJ. 2, LOTE 05
77015-202 – PALMAS/TO
TEL: (63) 3219-4300 / 4330 – FAX: 3219-4305

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Secretaria de Defesa Agropecuária

Departamento de Saúde Animal

Esplanada dos Ministérios, Bloco D, Anexo A, 3º andar

CEP 70043-900 – Brasília/DF

E-mail: tub-bru@agricultura.gov.br

www.agricultura.gov.br

Central de Relacionamento: 0800 61 1995

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Secretaria de Defesa Agropecuária

Departamento de Saúde Animal

Esplanada dos Ministérios, Bloco D, Anexo A, 3º andar

CEP 70043-900 – Brasília/DF

E-mail: tub-bru@agricultura.gov.br

www.agricultura.gov.br

Central de Relacionamento: 0800 61 1995

ISBN 85-99851-01-2



9 788599 851012