



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Programa de Pós-graduação em Saúde Animal

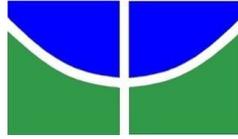
**ESTUDO DA SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA
TUBERCULOSE BUBALINA NO DISTRITO FEDERAL**

DANIEL NUNES DA NATIVIDADE

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: 173/2020

BRASÍLIA/DF
AGOSTO DE 2020



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Programa de Pós-graduação em Saúde Animal

**ESTUDO DA SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA
TUBERCULOSE BUBALINA NO DISTRITO FEDERAL**

DANIEL NUNES DA NATIVIDADE

ORIENTADOR: FABIANO JOSÉ FERREIRA DE SANT'ANA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO:173/2020

BRASÍLIA/DF
AGOSTO/2020

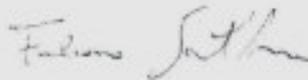
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

ESTUDO DA SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA TUBERCULOSE
BUBALINA NO DISTRITO FEDERAL

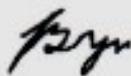
DANIEL NUNES DA NATIVIDADE

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL,
COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS A OBTENÇÃO DO
GRAU DE MESTRE EM SAÚDE
ANIMAL.

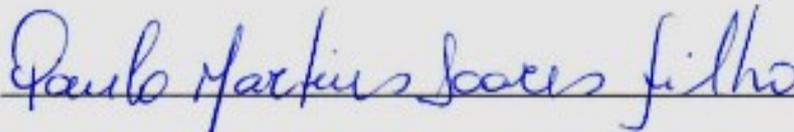
APROVADA POR:



FABIANO JOSÉ FERREIRA DE SANT'ANA, Doutor (Universidade de Brasília)
(ORIENTADOR)



JOSÉ RENATO JUNQUEIRA BORGES, Doutor (Universidade de Brasília)
(EXAMINADOR INTERNO)



PAULO MARTINS SOARES FILHO, Doutor (Ministério da Agricultura, Pecuária e
Abastecimento)
(EXAMINADOR EXTERNO)

BRASÍLIA, 31 DE AGOSTO DE 2020

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

NATIVIDADE, D. N. **Estudo da situação epidemiológica da tuberculose bubalina no Distrito Federal.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2020, 60 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal autorizando reprodução desta dissertação de Mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

NN278e	NATIVIDADE, DANIEL NUNES Estudo da situação epidemiológica da tuberculose bubalina no Distrito Federal. / DANIEL NUNES NATIVIDADE; orientador Fabiano José Ferreira de Sant'ana. -- Brasília, 2020. 58 p. Dissertação (Mestrado - Mestrado em Saúde Animal) -- Universidade de Brasília, 2020. 1. Doenças de búfalos. 2. Bubalus bubalis. 3. Mycobacterium bovis. 4. Distrito Federal. I. Sant'ana, Fabiano José Ferreira de, orient. II. Título.
--------	---

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela vida e saúde para realização deste grande sonho.

À Universidade de Brasília (UnB) pela oportunidade de realizar o curso de pós - graduação.

Ao meu orientador, Professor Dr. Fabiano José Ferreira de Sant'Ana, pela oportunidade, paciência e ensinamentos durante toda execução desse projeto, exemplo de dedicação e humildade.

À Seagri-DF, pela concessão desta oportunidade de crescimento intelectual.

Ao Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento (MAPA) em especial à equipe do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) e ao Dr. Paulo Martins Soares Filho do Laboratório Federal de Defesa Agropecuária (LFDA – MG), pela doação dos insumos e apoio e orientação para conclusão da dissertação.

À equipe de veterinários e todos os servidores da Subsecretaria de Defesa Agropecuária/Seagri - DF, que viabilizaram a realização desse estudo, sempre apoiando e incentivando diariamente.

Ao Geraldo, o idealizador desse projeto e apoiador durante toda a execução.

Aos professores do curso de Pós-graduação em Saúde Animal, pelas orientações e compartilhamento de seus conhecimentos.

A todos os produtores que ajudaram e permitiram a realização desse estudo.

Aos meus familiares, em especial minha esposa Maria Clara e meus filhos Mariana e João Lucas que me transmitem força e alegria diariamente e a meu pai Idelbrando, um grande guerreiro e apoiador.

RESUMO

A tuberculose é uma importante zoonose bacteriana, infecto-contagiosa, crônica, de distribuição mundial e que afeta muitas espécies domésticas, incluindo os búfalos. Foi feito, no Distrito Federal, um estudo censitário na população bubalina existente para verificar a prevalência aparente nesta população. Foram testados 581 animais de todas as idades em 17 propriedades, pelo Teste Cervical Comparativo (TCC) considerando a seguinte interpretação de $\Delta B - \Delta A$: 0 a 1,9 – negativo, 2 a 3,9 – inconclusivo e $\geq 4,0$ – positivo). Obteve-se três resultados positivos em duas propriedades distintas, sendo um animal em uma e dois em outra. Os animais com dois resultados inconclusivos foram considerados positivos, porém, de 13 animais com resultado inconclusivo ao primeiro teste, nenhum se confirmou ao segundo teste, sendo a prevalência aparente estimada em 11,76 % (2/17) em rebanhos e 0,52% (3/581) em búfalos amostrados. As propriedades no Distrito Federal têm algumas características peculiares apresentando desde explorações voltadas para a produção leiteira não comercial, em sua maioria, até a manutenção como animais de estimação. A maior parte das explorações apresenta baixo nível de adoção de tecnologia, baixa produtividade e carecem de melhor controle sanitário. Da análise das informações, pelo teste qui-quadrado (χ^2) com o auxílio do programa STATA 12, o único fator que se revelou associado à tuberculose nas propriedades de bubalinos do DF foi o tipo de exploração corte. Os dados do presente estudo demonstram que a tuberculose encontra-se presente em rebanhos de bubalinos do Distrito Federal. A prevalência da enfermidade revelou-se ser mais elevada em rebanhos do que em animais, porém compatíveis com a implementação de medidas estratégicas que visem sua erradicação nesta Unidade Federativa, sobretudo em razão do reduzido número de explorações e de animais.

Palavras-chave: doenças de búfalos, *Bubalus bubalis*, *Mycobacterium bovis*, Distrito Federal.

ABSTRACT

Tuberculosis is an important cosmopolitan bacterial infecto-contagious zoonosis. The disease affects numerous domestic animals, including buffaloes. A census study was performed in Distrito Federal to verify the apparent prevalence of bubaline tuberculosis. Five-hundred and eighty-one animals of all ages in 17 farms were analyzed by the comparative cervical test (CCT), considering the following interpretation of $\Delta B - \Delta A$: 0 to 1,9 – negative, 2 to 3,9 – inconclusive and $\geq 4,0$ – positive. Three animals of two farms were positive (two in one farm and another one in other propertie). Buffaloes with two inconclusive results were considered positive. In the current study, 13 animals presented inconclusive result in the first test, but none was confirmed in the second evaluation. The apparent herd prevalence was 11.76% (2/17), while animal prevalence was 0.52% (3/581). The properties in Distrito Federal have some peculiar characteristics, including farms primarily focused on non-commercial dairy production and others where the buffaloes are bred as pet animals. Most farms presented low level of technification, low productivity and need better sanitary control. Analyzing the data by Chi-Square test (χ^2), the type of beef exploration was the only factor associated to diagnosis of bubaline tuberculosis in DF. Data of the current study demonstrate that tuberculosis is present in bubaline herds of DF. The prevalence of the disease proved to be higher in herds than in animals, but compatible with the implementation of strategic measures aiming its eradication in this Federative Unit, mainly due to the small number of farms and animals.

Key-words: diseases of buffaloes, *Bubalus bubalis*, *Mycobacterium bovis*, Distrito Federal.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Interpretação do teste cervical comparativo (TCC) após inoculação das tuberculinas aviária (ΔA) e bovina (ΔB) para diagnóstico de tuberculose.....	33
Tabela 2. Prevalência aparente de rebanhos para tuberculose bubalina no Distrito Federal. ..	35
Tabela 3. Prevalência aparente de animais para tuberculose bubalina no Distrito Federal.	35
Tabela 4. Leitura das medidas de espessura das dobras de pele (mm) dos búfalos reagentes positivos ao teste cervical comparativo (TCC).	36
Tabela 5. Características das explorações de propriedades de bubalinos no Distrito Federal (2019).	39
Tabela 6. Caraterísticas produtivas das explorações de bubalinos no Distrito Federal (2019).	44
Tabela 7. Análise univariada com a variável tipo de exploração, testada para associação com rebanhos positivos para tuberculose.....	45
Tabela 8. Análise univariada com a variável tipo de exploração, testada para associação com rebanhos bubalinos positivos para tuberculose no Distrito Federal.	46
Tabela 9. Odds Ratio em análise univariada com a variável tipo de exploração, testada para associação com rebanhos bubalinos positivos para tuberculose no Distrito Federal.	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição e incidência mundial da tuberculose bovina no primeiro semestre de 2020.....	15
Figura 2 - Distribuição geográfica das propriedades positivas e negativas para tuberculose bubalina no Distrito Federal.....	37
Figura 3 - Distribuição geográfica das propriedades avaliadas para tuberculose bubalina no Distrito Federal de acordo com o tamanho dos seus rebanhos.	38
Figura 4 - Tamanho dos rebanhos de bubalinos do Distrito Federal	40
Figura 5 - Tamanho dos rebanhos de bubalinos do Distrito Federal	40
Figura 6 - Representação em box-plot da idade de bubalinos em.....	42

LISTA DE ANEXOS

Anexo I - Planilha de leitura de resultados de de tuberculinização intradérmica.	54
Anexo II – Questionário.....	56
Anexo III - Portaria Seagri nº 95/2019.....	57
Anexo IV - Termo de compromisso.....	58

SUMÁRIO

1. REFERENCIAL TEÓRICO	12
1.1. Etiologia	12
1.2 Distribuição geográfica	14
1.3 Patogenia	15
1.4 Sinais clínicos.....	17
1.5 Fatores de risco.....	17
1.6 Diagnósticos.....	18
2. OBJETIVOS	21
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
4. INFORMAÇÕES ADICIONAIS	26
5. ARTIGO CIENTÍFICO	27
INTRODUÇÃO	28
MATERIAL E MÉTODOS	29
RESULTADOS.....	35
DISCUSSÃO.....	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Etiologia

Em razão de sua expressiva robustez e rusticidade, propaga-se o conceito de que o bubalino é resistente a uma série de doenças, porém essa teoria não apresenta sustentação, uma vez que os búfalos são susceptíveis a numerosos patógenos, incluindo o *Mycobacterium bovis* (RIBEIRO, 2003). A literatura disponível tem relatado para a tuberculose bubalina características muito semelhantes às da enfermidade bovina, incluindo a associação do *M. bovis* às lesões observadas (FREITAS; GUERRA; PANETTA, 2001). O primeiro registro dessa doença em bubalinos foi em 1889, na Hungria (LÁU, 2006)

Além do *M. bovis* existe ainda o *M. tuberculosis*, que causa a tuberculose humana; *M. bovis*-Bacille Calmette-Guérin (BCG) – derivado de *M. bovis* que, por cultivos sucessivos em meio de batata glicerinada com bile bovina perdeu sua virulência conservando, porém, a propriedade de proteção imunológica contra *M. tuberculosis*; *M. caprae*, causador da doença em caprinos e bovinos; *M. africanum*, detectado em casos de tuberculose humana no continente africano; *M. microti*, que causa tuberculose em roedores; *M. pinnipedii*, causador da doença em leões marinhos e em humanos; *M. canettii*, variante de *M. tuberculosis* encontrada na região da Somália e, mais recentemente, *M. mungi*, isolada numa população de mangustos (*Mungos mungo*) em Botswana (HADDAD et al., 2005; ALEXANDER et al., 2010). Existem também as espécies *M. avium* e *M. Intracellulare*, denominadas como complexo *M. avium-intracellulare* (MAC), que correspondem aos agentes etiológicos da tuberculose aviária. Essas micobactérias não são patogênicas para os bubalinos, mas provocam reações inespecíficas, interferindo nas provas de tuberculinização (DVORSKA et al., 2004)

A tuberculose é uma doença infecto-contagiosa, crônica, cosmopolita, caracterizada por formações de lesões granulomatosas em vários órgãos e tecidos, a depender da espécie animal afetada e via de infecção (OLIVEIRA et al., 2007). A bactéria pertence ao gênero *Mycobacterium*, família Mycobacteriaceae e ordem Actinomycetales (COSIVI et al., 1995). É um bastonete álcool-ácido resistente, que pode ser visualizado à microscopia direta sob a forma de cocobacilos ou bacilos, dependendo do tempo de cultivo. Tal característica deve-se aos ácidos micólicos, que são ácidos graxos de elevado peso molecular, presentes na parede celular diretamente responsáveis pela impermeabilização da superfície da micobactéria, conferindo-lhe características hidrofóbicas e resistência à maioria dos desinfetantes, dos antibacterianos e à dessecação. São aeróbicos, imóveis, não capsulados, não flagelados, não esporulados, gram-positivos, apresentam aspecto granular quando corados e medem de 1 a 10 µm de comprimento por 0,2 a 0,6 µm de largura (RASTOGI; SOLA, 2007).

Embora essas bactérias não sejam formadoras de esporos, têm uma grande capacidade de permanecer viáveis em condições desfavoráveis. *M. bovis* pode permanecer viável em estábulos, pasto e esterco por até dois anos, por até um ano na água e por até dez meses nos produtos de origem animal contaminados. Em condições de anaerobiose no tanque de chorume, o *M. bovis* pode ficar viável por períodos de até 26 semanas (GOODCHILD; CLIFTON-HADLEY., 2001).

M. bovis é sensível aos desinfetantes fenólicos, formólicos, álcool e em especial ao hipoclorito de sódio ou cálcio a 5%, que têm ação efetiva sobre o micro-organismo. Já os compostos de amônio quaternários e clorexidine não destroem a bactéria (RUSSEL et al., 1984). O calor úmido a 60° C inativa o *M. bovis* rapidamente. A pasteurização, consistindo no tratamento do leite a 62,8-65,6° C por 30 min. ou 71,7° C por 15 seg. inativa

além das micobactérias, a maioria dos micro-organismos não-esporulados (NASCIMENTO, 2015).

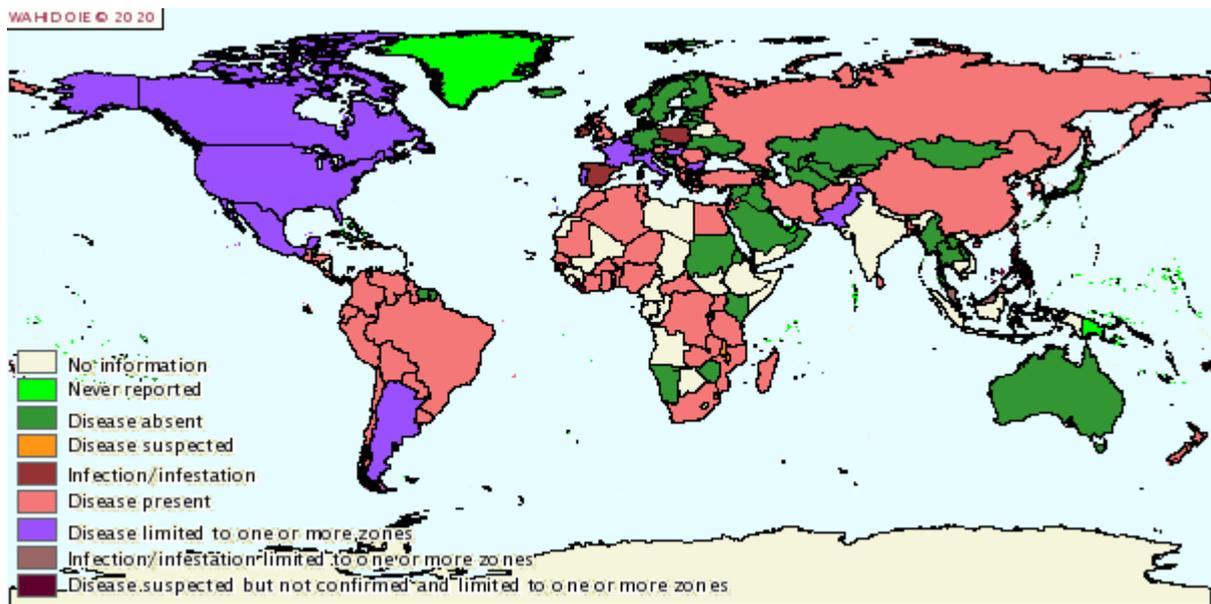
1.2 Distribuição geográfica

A tuberculose bovina e bubalina é encontrada em muitos continentes, porém, alguns países nunca detectaram a doença, enquanto que países desenvolvidos reduziram ou eliminaram a enfermidade de sua população bovina e ou a mantiveram limitada a uma ou mais zonas. No entanto, existe o risco de permanência da infecção em animais de vida selvagem. A tuberculose bovina é muito frequente na África e em algumas regiões da Ásia, mas a doença também é encontrada em países europeus e nas Américas (OIE, 2020). Em búfalos, a doença foi registrada pela primeira vez em 1889, na Hungria (LAU, 2006). No Brasil, o primeiro caso de isolamento de *M. bovis* em búfalos foi descrito em 1971, em São Paulo (PORTUGAL et al., 1971).

A enfermidade no Brasil ainda requer maiores estudos na espécie bubalina. No estado do Pará, registrou-se prevalência de 3,5% em búfalos criados em municípios da ilha do Marajó e ainda 7,2% de bubalinos positivos em outros nove municípios paraenses (PEREIRA et al., 2017). No Brasil, a notificação dos casos confirmados é obrigatória tanto aos serviços de saúde quanto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2017).

A Fig. 1 ilustra a distribuição mundial da tuberculose bovina, no primeiro semestre de 2020, visto que não há registros oficiais disponíveis em bubalinos (OIE, 2020).

Figura 1 - Distribuição e incidência mundial da tuberculose bovina no primeiro semestre de 2020.



Fonte: OIE, 2020

1.3 Patogenia

Os búfalos possuem hábito gregário e gostam de permanecer reunidos em poços ou curso de água para obter conforto térmico, o que determina a constante proximidade entre os animais e facilita a transmissão da tuberculose entre eles (LEITE; BASTIANETTO, 2009).

A fonte principal de infecção é o contato próximo com animais doentes e usualmente a contaminação se dá por via respiratória. Os bacilos são eliminados por meio de tosse, espirro, corrimento nasal, leite, urina, fezes, sêmen e secreções vaginais e uterinas. A via de transmissão comum são aquelas provenientes de aerossóis em suspensão que são inaladas pelo indivíduo ou por via digestiva. Os animais em confinamento estão sob maior risco, devido ao maior contato direto com outros animais que podem ser portadores do bacilo (SILVA; MOURA; REIS., 2011). Há os reservatórios naturais como os veados selvagens, o texugo na Europa e o gambá na Nova Zelândia. Os mais susceptíveis a infecção são os bovinos, bubalinos, homem e o suíno, sendo os equinos, os gatos, os caprinos e ovinos os mais resistentes (QUINN et al., 2005). Os

bezerros de búfalos podem se contaminar mediante a ingestão do leite, tendo a búfala a particularidade de amamentar vários bezerros de mães diferentes.

Como o agente não suporta, por muito tempo, as condições climáticas, as transmissões em pastagens são relativamente baixas (QUINN et al., 2005). Sabe-se que a incidência da infecção é baixa em novilhas sadias colocadas em pastagens que abrigou animais portadores do bacilo (BANZATO et al., 1989), o que é diferente nas situações de estabulações (SILVA; MOURA; REIS, 2011).

Existem duas vias de entrada da bactéria no organismo do animal: respiratória ou digestiva. Caso seja respiratória, a forma mais comum de entrada, as bactérias irão infectar o pulmão e, posteriormente, os linfonodos mediastínicos e traqueobronquiais. No caso de ingestão, irão localizar-se na parede intestinal, linfonodos mesentéricos e fígado. Em ambos os casos, no primeiro órgão afetado (pulmão ou intestino) originam reação inflamatória específica (formação de granulomas) e, posteriormente inflamação e hiperplasia nos linfonodos regionais. Caso o organismo supere essa fase, as lesões podem sofrer calcificação distrófica e evoluir para cronicidade. Quando isso não ocorre, ela progride via linfática ou hemática, para outras partes do organismo, causando a tuberculose miliar aguda. Neste caso, a resistência orgânica diminui drasticamente, favorecendo a generalização da doença, podendo ocorrer broncopneumonia e, posterior, morte do animal. Nos bubalinos, a tuberculose crônica é a mais frequente (GUINDI et al., 1975; ADAWY,1985), sendo os linfonodos retrofaríngeos e mediastínicos os mais atingidos (LÁU, 2006).

O bacilo é fagocitado pelo macrófago ligando-se às moléculas de superfície da célula do fagócito. A captura do bacilo pelo fagócito no fagossomo ou pelo vacúolo intracitoplasmático protege a micobactéria das defesas naturais do organismo do hospedeiro. Após a fagocitose do bacilo, o lisossomo se funde com o fagossomo formando o fagolisossomo e assim o fagócito tenta destruir o agente (SILVA; MOURA; REIS, 2011). No entanto, o bacilo

tem a habilidade de resistir à inativação. A micobactéria virulenta sobrevive dentro do macrófago inibindo a fusão do lisossomo com o fagossomo formado impedindo a sua acidificação e destruição do bacilo (ROCHA et al., 2012).

1.4 Sinais clínicos

A maioria dos bubalinos com tuberculose não apresenta sinais clínicos. No entanto, em estabelecimentos com prevalência alta, alguns animais podem apresentar emagrecimento, debilidade, febre, anorexia e sinais respiratórios caracterizados por dispneia, tosse e corrimento nasal seroso ou purulento. Em alguns casos, pode-se observar linfonodos periféricos, principalmente os da cabeça e os pré-escapulares, consideravelmente aumentados de tamanho. Animais com sinais clínicos de tuberculose apresentam evolução de vários meses e morrem por emaciação (RIET-CORREA et al., 2007).

1.5 Fatores de risco

Um dos fatores que propiciam a transmissão da tuberculose nos rebanhos incluem contato próximo entre animais (confinados ou de criações semi-intensivas) sadios e infectados, além de condições ambientais favoráveis à resistência do agente. Outro ponto importante é a presença de animais silvestres de vida livre, que podem funcionar como reservatório da doença (OLIVEIRA et al., 2007).

Outros autores consideram manejo, raça (PEREZ et al., 2002), sistema de produção, grupo genético, sistema de ordenha, resfriamento do leite e monitoramento da produção como fatores de risco para tuberculose (DE SOUZA, 2013; BELCHIOR et al., 2016).

Em um estudo realizado no Estado de Amazonas, observou-se que o tamanho do rebanho é um importante fator de risco para transmissão da tuberculose bubalina (CARNEIRO

et al., 2019). Segundo esses autores, rebanhos maiores tem maior atividade comercial, com introdução frequente de animais de outros rebanhos e essa movimentação animal aumenta o risco de transmissão. Outro fator também relevante apontado neste estudo é a presença de rebanhos mistos de bovinos e búfalos na mesma fazenda, aumentando o risco de infecção por *M. bovis*. A presença de diferentes espécies aumenta o potencial para interações e a maior exposição leva a maior incidência.

Um dos principais fatores de risco individuais identificados por numerosos estudos é a idade dos animais, visto que a duração da exposição aumenta com a idade. O gênero foi mencionado como um fator de risco em estudos realizados na África, considerando que vacas leiteiras geralmente atingem idade mais avançada que os machos devido à produção de leite (HUMBLET; BOSCHIROLI; SAEGERMAN, 2009). Nesse sentido ressalta-se a longevidade reprodutiva dos bubalinos.

1.6 Diagnóstico

Atualmente, a literatura discute lesões que são comumente encontradas e maneiras de diagnosticar tuberculose em búfalos (JOLLES et al.,2005). Existem vários testes para diagnóstico da tuberculose, alguns *post mortem* e outros *ante mortem*. Entre os *post mortem*, destacam-se a inspeção sanitária em frigoríficos com observação de lesões sugestivas e confirmação por outros testes; a histopatologia, realizado a partir de lesões sugestivas, com boa sensibilidade e baixo custo sendo uma técnica segura; e a reação em cadeia de polimerase (PCR), que possui rápido resultado, possibilitando a detecção de material genético de *M. bovis* em amostras contaminadas ou até mesmo autolisadas. Um fator crítico desta última técnica é a dificuldade na extração do material genético. O isolamento e a identificação do agente etiológico são considerados a técnica padrão-ouro, que consiste na recuperação de material viável de *M. bovis* a partir de tecidos ou secreções, com especificidade de 100%. Entretanto,

essa técnica tem alto custo, risco biológico e demora na obtenção do resultado (SOARES FILHO, 2017).

Entre os testes *ante – mortem*, pode-se incluir: a tuberculinização, que é um dos testes mais antigos e um dos mais utilizados atualmente; o ELISA, que possui baixa sensibilidade e especificidade, porém é considerado uma boa alternativa para detectar animais positivos não confirmados na tuberculinização (SOARES FILHO, 2017); e o interferon-gama, que consiste em uma prova *in vitro* que detecta a resposta da imunidade celular específica à infecção por *M. bovis*. De acordo com Gormley et al. (2006), a sensibilidade diagnóstica deste teste é considerada superior a da tuberculinização intradérmica cervical comparada, porém a sua especificidade é menor, tornando-o inapropriado como teste único em zonas de baixa prevalência da doença. Outra desvantagem dessa técnica está relacionada ao tempo curto entre a coleta do sangue heparinizado e o processamento da amostra que tem que ser no máximo 12 horas (WOOD; ROTHEL, 1994). As vantagens desse teste incluem: procedimento não invasivo, resultado rápido, interpretação menos subjetiva e facilidade no manejo dos animais, por se tratar de uma única coleta de sangue (DE LA RUA-DOMENECH, 2006).

No Brasil, o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) foi criado visando o controle dessas duas importantes enfermidades em bovinos e bubalinos (BRASIL, 2006). Com relação à tuberculose, um dos testes amplamente utilizados é a tuberculinização, que é a prova diagnóstica indireta para a doença recomendada pela OIE (SOARES FILHO, 2017).

O diagnóstico por tuberculinização consiste na inoculação intradérmica de quantidades determinadas de tuberculoproteínas com conhecida atividade biológica e na observação ou quantificação da reação de hipersensibilidade tipo IV, aproximadamente três dias após a inoculação. Os antígenos utilizados nos testes são produzidos e padronizados internacionalmente do modo a garantir a adequada capacidade diagnóstica do método. São

proteínas, em sua maioria de baixo peso molecular, solúveis em água, secretadas por amostras AN5 de *M. bovis* e D4 de *M. avium* em meio de cultura líquido sintético. Um concentrado protéico é obtido após precipitação com ácido tricloroacético e padronizado de acordo com atividade biológica determinada por ensaio biológico em cobaios (*Cavea porcelus*) ou na espécie alvo, ao qual se nomeia derivado proteico purificado (PPD bovina e PPD aviária). São recomendados pelo menos 2000 Unidades Internacionais por dose de PPD bovina e aviária (SOARES FILHO, 2017).

A tuberculinização pode ser realizada de três formas diferentes: prega caudal, tuberculinização cervical simples (TCS) ou tuberculinização cervical comparativa (TCC). Todas essas provas *in vivo* necessitam de pelo menos duas visitas à propriedade, uso de equipamentos específicos e treinamento do veterinário com vistas a sua habilitação para a realização e interpretação de seus resultados. O PNCEBT padronizou os critérios de execução das provas e interpretação dos resultados (BRASIL, 2006; SOARES FILHO, 2017).

A tuberculinização em bubalinos se faz com base na tabela de interpretação da prova para bovinos. Ainda são necessários maiores estudos para o estabelecimento de indicadores de prevalência e incidência dessa doença em rebanhos brasileiros. Outro ponto relevante adicional é entender melhor a reação alérgica nos bubalinos e definir melhor uma tabela de interpretação dos resultados (RIBEIRO, 2003). Segundo Ribeiro (2003), o modelo de tuberculinização se mostrou bastante eficaz na espécie bubalina, com o melhor momento para leitura ocorrendo 77,3 horas após a inoculação, ou seja, semelhante ao observado em bovinos para reações de hipersensibilidade tardia que é em torno de 72 horas. Respeitando o intervalo de confiança, esse pesquisador observou também ausência de diferença de aumento da espessura da pele entre os lados esquerdo e direito. Do ponto de vista prático, esse fator ajuda na realização do exame em propriedades mais rudimentares. Outro ponto observado é que o bubalino não altera a

sensibilidade ao teste em relação à altura da inoculação e a região caudal é a menos sensível para inoculação em bubalinos.

Um fator negativo deste teste consiste na sua aplicação em animais anérgicos, que podem ser animais previamente imunizados ou dessensibilizados ou animais em estágio avançado da doença, onde há um excesso de antígeno no organismo diminuindo a resposta ao teste, além de animais imunossuprimidos (NASCIMENTO, 2015). Animais com essas características, embora infectados, não costumam reagir positivamente à prova de tuberculinização (MEDEIROS et al., 2016).

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL:

O presente trabalho objetiva determinar a prevalência e distribuição geográfica de propriedades rurais com rebanhos bubalinos infectados com tuberculose no Distrito Federal.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Identificar tipos de criação, práticas de manejo e possíveis fatores de risco que possam estar associados à tuberculose bubalina no Distrito Federal.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAWY, A. T. Incidence of tuberculosis in egyptian buffaloes. In: **World Buffalo Congress**, Cairo: Egyptian Veterinary Association for Buffalo Development, 1985. p.806-818.

ALEXANDER, K. A.; LAVER, P. N.; MICHEL, A. L.; WILLIAMS, M.; VAN HELDEN, P. D.; WARREN, R. M.; van PITTIUS, N. C. Novel *Mycobacterium tuberculosis* complex pathogen, *M. mungi*. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, n.8, p.1296-1299, 2010.

BANZATO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. Jaboticabal: FUNEP, 1989. 247p.

BELCHIOR, A. P. C.; LOPES, L. B.; GONÇALVES, V. S. P.; LEITE, R. C. Prevalence and risk factors for bovine tuberculosis in Minas Gerais State, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v.48, n.2, p.373-78, 2016.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT): Manual Técnico**. Brasília, DF, 2006. 188 p.

BRASIL, A. B. **Tuberculose Animal Business Brasil**, 27 jun. 2017. Disponível em: <<https://animalbusiness.com.br/colunas/zoonoses/tuberculose/>>. Acesso em: 26 maio. 2020

CARNEIRO, P. A. M; TAKATANI, H; PASQUATTI, T. N; SILVA, C. B. D. G; NORBY, B.; WILKINS, M. J.; ZUMARRAGA, M. J.; ARAÚJO, F. R.; KANEENE, J. B. Epidemiological study of *Mycobacterium bovis* infection in buffalo and cattle in Amazonas, Brazil. **Frontiers in Veterinary Science**, v.6, 434, 2019.

COSIVI, O.; MESLIN, F. X.; DABORN, C.J.; GRANGE, J. M. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in animals and humans, with particular reference to Africa. **Revue Scientifique et Technique de l'OIE**, v.14, n.3, p.733–746, 1995.

DE LA RUA-DOMENECH, R. Human *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. **Tuberculosis**, v.86, n.2, p.77-109, 2006.

DE SOUSA, V. E. **Tuberculose em búfalo (*Bubalus bubalis*, var. *bubalis* – Linnaeus, 1758): diagnóstico, avaliação da resposta alérgica, fatores de risco, georeferenciamento em rebanhos da Baixada Maranhense – MA, Brasil**. Dissertação—Universidade Estadual do Maranhão, 2013.

DVORSKA, L.; MATLOVA, L.; BARTOS, M.; PARMOVA, I.; BARTL, J.; SVASTOVA, P.; BULL, T. J.; PAVLIK, I. Study of *Mycobacterium avium* complex strains isolated from cattle in the Czech Republic between 1996 and 2000. **Veterinary Microbiology**, v.99, n.3–4, p.239–250, abr. 2004.

FREITAS, J. DE A.; GUERRA, J. L.; PANETTA, J. C. Characteristics of tuberculosis in slaughtered water buffaloes. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.4, p.170–176, 2001.

GUINDI, S. M.; LOFTY, O.; AWAD, W. M. Some observations regarding the infectivity and sensitivity for tuberculosis in buffaloes in Arab Republic of Egypt. **Journal of Egyptian Veterinary Medical Association**, n.35, p.125-138, 1975.

GOODCHILD, A. V.; CLIFTON-HADLEY, R. S. Cattle-to-cattle transmission of *Mycobacterium bovis*. **Tuberculosis**, v.81, n.1-2, p.23-41, 2001.

GORMLEY, E.; DOYLE, M. B.; FITZSIMONS, T.; MCGILL, K.; COLLINS, J. D. Diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle by use of the gamma-interferon (Bovigam®) assay. **Veterinary Microbiology**, v.112, n.2-4, p. 171-179, 2006.

HADDAD, D. J.; IDE, J.; FERRAZOLI, L.; SEISCENTO, M.; TELLES, M. A. S.; MARIA MARTINS, C.; LEITE, O. M.; UEKI, S. Y. M. **Micobacterioses: Recomendações para o diagnóstico e tratamento**. Secretaria Estadual de Saúde de São Paulo. Coordenadoria de Doenças Infecciosas, 29p., 2005.

HUMBLET, M.; BOSCHIROLI, M. L.; SAEGERMAN, C. Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle: a stratified approach. **Veterinary Research**, v.40, n.5, 50, 2009.

JOLLES A. E; COOPER D. V; LEVIN S. A; Hidden effects of chronic tuberculosis in African buffalo. **Ecology**, v.86, n.9, p.2358-2364, 2005.

LÁU, H. D. **Teste Intradérmico no Diagnóstico da Tuberculose em Búfalos**, Documentos 250, Belém: Embrapa, 2006. 22 p.

LEITE, R. C.; BASTIANETTO, E. Doenças infecciosas em búfalos. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, Supl.1, p.1-11, 2009.

MEDEIROS, L. S.; CARVALHO, Y. K.; MACIEL, R. C. G.; LILENBHUM, W. Análise de custo-efetividade de protocolos no diagnóstico da tuberculose bovina em um rebanho naturalmente infectado. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, n.6, p.485-491, 2016.

NASCIMENTO, G. T. **Prevalência e fatores de risco da tuberculose bovina no Distrito Federal**. Brasília: Universidade de Brasília, 2015. 66p. Dissertação Mestrado em Saúde Animal.

OIE (World Organization for Animal Health). Bovine tuberculosis. Disponível em: <<https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/bovine-tuberculosis/>>. Acesso em: 18 maio 2020.

OLIVEIRA, I. A. S.; MELO, H. P. C.; CÂMARA, A.; DIAS, R. V. C.; SOTO-BLANCO, B. Prevalência de tuberculose no rebanho bovino de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.44, n.6, p.395-400, 2007.

PEREIRA, J. D. B.; CERQUEIRA, V. D.; BEZERRA JÚNIOR, P. S.; OLIVEIRA BEZERRA, D. K.; ARAÚJO, F. R.; DIAS, A. C. L.; ARAÚJO, C. P.; RIET-CORREA, G. Diagnóstico histopatológico e molecular de lesões sugestivas de tuberculose em búfalos abatidos nos municípios de Macapá e Santana, estado do Amapá. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n.11, p.1198-1204, 2017.

PEREZ, A. M.; WARD, M. P.; CHARMANDARIÁN, A., RITACCO, V. Simulation model of within-herd transmission of bovine tuberculosis in Argentine dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.54, n.4, p.361–372, 2002.

PORTUGAL, M. A. S. C.; GIORG, W.; SIQUEIRA, P. A. Ocorrência de tuberculose em bubalinos (*Buballus bubalis* var. *Bubalis lineus*, 1758) no Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.4, n.1, p.231-238, 1971.

QUINN, J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, J. ; LEONARD, F. C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. 1.ed. Porto Alegre: ArtMed, 2005. 512p.

RASTOGI, N.; SOLA, C. **Chapter 2. Molecular Evolution of the Mycobacterium tuberculosis Complex**. 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Nalin_Rastogi/publication/238107505_Chapter_2_Molecular_Evolution_of_the_Mycobacterium_tuberculosis_Complex/links/5ae777520f7e9b837d392d86/Chapter-2-Molecular-Evolution-of-the-Mycobacterium-tuberculosis-Complex.pdf>. Acesso em: 31 maio. 2020

RIBEIRO, A.C.C.L. **Diagnóstico da tuberculose em búfalos**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2003, Tese Doutorado em Ciência Animal.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3ª ed., Santa Maria: Pallotti, 2007. 722p.

ROCHA, V. C. F.; FIGUEIREDO, S. C.; ELIAS, A. O.; LEÃO, D. A. S.; FERREIRA NETO, J. S. Mycobacterium Bovis Como Agente Causal da Tuberculose Humana. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v.10, n.2/3, p.22–31, 2012.

RUSSEL, A. D.; YARNYCH, V. S.; KOULIKOVSKII, A. V. (Ed.) **Guidelines on disinfection in animal husbandry for prevention and control of zoonotic diaseses**. Geneva: World Health Organization, 1984, 62p.

SILVA, M. C.; MOURA, M. S.; REIS, D. O. Tuberculose – Revisão de literatura. **Pubvet**, v.5, n.17, 1106, 2011.

SOARES FILHO, P. M. **Desempenho de métodos diretos e indiretos para diagnóstico da tuberculose bovina**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2017, 74p., Tese Doutorado em Ciência Animal.

WOOD, P. R.; ROTHEL, J. S. In vitro immunodiagnostic assays for bovine tuberculosis. **Veterinary Microbiology**, v.40, n.1–2, p. 125-135, 1994.

4. INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Como parte da dissertação, foi redigido um artigo científico intitulado “Prevalência e fatores de risco para tuberculose bubalina no Distrito Federal, Brasil” que será posteriormente traduzido para o inglês e submetido para publicação no periódico científico “Tropical Animal Health and Production”.

5. ARTIGO CIENTÍFICO

Prevalência e fatores de risco para tuberculose bubalina e perfil produtivo da bubalinocultura no Distrito Federal, Brasil

D.N. Natividade^{1,2}, V.E.B. Campos^{1,2}, G.T. Nascimento¹, A.L.A.A. Mota³, V.S.P.

Gonçalves³, F.J.F. Sant'Ana⁴

1. Secretaria de Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural do Distrito Federal (SEAGRI), Subsecretaria de Defesa Agropecuária (DAS), Brasília, DF.
2. Programa de Pós-graduação em Saúde Animal, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF.
3. Unb, Laboratório de Epidemiologia Veterinária (EpiPlan), Brasília, DF.
4. UnB, Laboratório de Diagnóstico Patológico Veterinário, Brasília, DF.

Resumo

A tuberculose é uma importante zoonose bacteriana, de distribuição mundial, e que afeta muitas espécies domésticas, incluindo os bubalinos. Foi realizado um estudo sencitário na população bubalina do Distrito Federal (DF), com o objetivo de determinar a prevalência aparente da tuberculose nesta população e o perfil produtivo da bubalinocultura local, bem como analisar possíveis fatores de risco associados à enfermidade. Foram testados 581 animais por tuberculinização intradérmica (teste cervical comparativo) com ponto de corte 4mm. Três búfalos foram positivos em duas propriedades. De 13 animais com resultado inconclusivo (PPD bovina – PPD aviária = 2,0-3,9mm) ao primeiro teste, nenhum se confirmou ao segundo teste. A prevalência aparente foi estimada em 3,44% em rebanhos e 0,89% em búfalos. As propriedades de búfalos no DF têm algumas características peculiares apresentando desde explorações voltadas à produção leiteira não comercial, em sua maioria, até a manutenção como

animais de estimação. A maior parte das explorações apresenta baixo nível de adoção de tecnologia, baixa produtividade e carecem de controle sanitário adequado. Dos possíveis fatores de risco analisados, o tipo de exploração corte foi o único associado à tuberculose ($p < 0,05$). A baixa prevalência detectada indica que a implementação de medidas estratégicas pode contribuir para a erradicação da tuberculose bubalina nesta unidade federativa brasileira.

Palavras-chave: doenças de búfalos, epidemiologia, *Mycobacterium bovis*, Distrito Federal.

INTRODUÇÃO

A tuberculose é uma importante zoonose bacteriana, infecto-contagiosa, crônica, debilitante, de distribuição mundial, e que afeta muitas espécies domésticas, incluindo os bubalinos. A doença é causada por bactérias Gram-positivas pertencentes ao Complexo *Mycobacterium tuberculosis*. Similar à tuberculose bovina, a doença, em búfalos, é caracterizada pela formação de lesões granulomatosas usualmente no sistema respiratório e linfonodos adjacentes (FREITAS et al., 2001). Os búfalos possuem hábito gregário e frequentemente permanecem reunidos em poços ou cursos de água para obter conforto térmico, o que determina constante proximidade entre os animais e facilita a transmissão da tuberculose entre eles (LEITE; BASTIANETTO., 2009).

A prevalência da tuberculose bovina é mais alta na África e em algumas regiões da Ásia, mas a doença também é encontrada em países europeus e nas Américas (OIE, 2020). Distribuição semelhante tem sido observada em búfalos, com casos diagnosticados na África do Sul (KEET et al., 1994), Egito (MANSUR, 1995), Tailândia (KANAMEDA et al., 1997), Índia (SOOD; GUPTA, 1989) e Austrália (HEIN; TOMASOVIC, 1981). No Brasil, poucos estudos têm sido realizados sobre tuberculose em búfalos (PORTUGAL et al., 1971; FREITAS

et al., 2001; MOTA et al., 2002; BARBOSA et al., 2014; MINHARRO et al., 2016) e alguns deles foram realizados avaliando amostras de frigoríficos na região Norte, que é a principal região produtora do país (FREITAS et al., 2001; PEREIRA et al., 2017). Dados oficiais do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil revelaram que entre 2004 e 2019 foram notificados apenas 1690 casos de tuberculose bubalina no país. (MAPA, 2020). Estudos realizados no Brasil em búfalos encontraram prevalência de 3,5% na ilha do Marajó e 7,2% em outros municípios paraenses (BARBOSA et al., 2014; PEREIRA et al., 2017). Na região do Baixo Araguari (Amapá), outro estudo revelou 14,8% de frequência estimada da enfermidade (MINHARRO et al., 2016). Assim, observa-se que os dados nacionais sobre ocorrência e distribuição da tuberculose bubalina são escassos. No Distrito Federal, apesar da prevalência ter sido determinada recentemente em bovinos (NASCIMENTO, 2015), inexistem informações oficiais sobre a enfermidade em búfalos.

O objetivo do presente estudo foi determinar a prevalência da tuberculose em bubalinos no Distrito Federal e o perfil produtivo da bubalinocultura local, além de analisar possíveis fatores de risco relacionados à enfermidade.

MATERIAL E MÉTODOS

População

Este trabalho consistiu de um estudo censitário e exploratório de propriedades com rebanhos de bubalinos cadastradas no Serviço de Defesa Agropecuária da SEAGRI-DF, realizado entre agosto de 2019 e março de 2020. O estudo envolveu um total de 17 rebanhos e de 581 animais de ambos os sexos e todas as idades, submetidos a testes de diagnóstico para tuberculose.

Documentação

Os procedimentos experimentais foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade de Brasília (UnB), conforme o protocolo nº 88/2019.

Devido à ausência de critérios específicos padronizados para interpretação de resultados aos testes de tuberculinação intradérmica para bubalinos, foram utilizados os critérios definidos para bovinos pela legislação brasileira. O Departamento de Saúde Animal e Insumos Pecuários (DSA) do MAPA, por meio da Divisão de Sanidade de Ruminantes (DSR) e da Coordenação do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) foi consultado pelo serviço veterinário oficial da SEAGRI-DF para aprovação do presente estudo epidemiológico exploratório. Dessa forma, o projeto foi aprovado e conduzido sem a necessidade do conhecimento prévio dos resultados pelos proprietários e, conseqüentemente, do abate ou sacrifício dos animais reagentes positivos (processo 21000.039452/2019-70).

Uma Portaria (Anexo III) assinada pelo Secretário de Estado da Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural do Distrito Federal (Portaria Seagri nº 95/2019), acompanhada de um Termo de Compromisso na forma de Anexo Único (Anexo IV), a ser assinado pelo proprietário dos animais, foi publicada no Diário Oficial do Distrito Federal em 27 de setembro de 2019, autorizando e oficializando a realização do estudo envolvendo a população de bubalinos do Distrito Federal.

Diagnóstico de Tuberculose

O método diagnóstico empregado foi o alérgico-cutâneo pelo teste de tuberculinização intradérmica cervical comparada (TCC), seguindo as normas e o protocolo definidos pelo Regulamento Técnico do PNCEBT (BRASIL, 2017), Manual do PNCEBT (BRASIL, 2006) e Manual de Procedimentos para Realização de Estudos Epidemiológicos de Brucelose e Tuberculose e Brucelose em Bovinos e Bubalinos (BRASIL, 2014).

As tuberculinas utilizadas foram PPD bovina padrão e PPD aviária padrão, produzidas e cedidas pelo Laboratório Federal de Defesa Agropecuária (LFDA), Pedro Leopoldo/MG, sendo utilizadas as partidas B01/18 e B01/19 de PPD bovina, com concentração de tubérculo-proteína de 1,0 mg/mL (2.951 UI por dose de 0,1ml), e as partidas A01/18 e A02/19 de PPD aviária, com concentração de tubérculo-proteína de 0,5 mg/ml (2.835 UI por dose de 0,1ml).

Operacionalização

Os procedimentos operacionais de realização dos testes de diagnóstico foram conduzidos por médicos veterinários e auxiliares de campo do serviço oficial de defesa sanitária animal da SEAGRI-DF. Os médicos veterinários envolvidos receberam treinamento em métodos de diagnóstico e controle da tuberculose a fim de assegurar a padronização dos procedimentos.

Em cada propriedade estudada foram agendadas, pelo menos, duas visitas: a primeira para inoculação das tuberculinas e a segunda, realizada 72 ± 6 horas após primeira, para a leitura dos resultados. Os procedimentos de leitura dos resultados à segunda visita foram realizados sempre pelo mesmo médico veterinário que realizou a inoculação das tuberculinas e leitura das espessuras de dobra de pele à primeira visita seguindo o protocolo para a realização dos testes a fim de evitar erros de leitura de resultados. Para as propriedades com casos de resultados inconclusivos, uma terceira visita foi agendada para a realização de novos testes de diagnóstico,

obedecendo-se um intervalo mínimo de 60 dias entre os testes, a fim de permitir a dessensibilização dos animais ao primeiro teste.

Um kit composto por um cutímetro de marca SUPRIVET® (Divinópolis, MG, Brasil), um jogo de duas seringas de marca McClintock® (Glasgow, Escócia), sendo uma para inoculação de PPD bovina e outra para PPD aviário e, aparelhos de tricotomia com lâminas, foram os equipamentos utilizados para realização dos testes de tuberculinização intradérmica.

Os animais foram contidos com o auxílio de cordas, bretes ou troncos, de acordo com as instalações da propriedade, de forma a permitir a abordagem e realização dos procedimentos necessários à inoculação de tuberculinas e leitura dos resultados, observados os cuidados em relação ao manejo dos rebanhos e à segurança dos operadores.

Os animais de cada rebanho, quando não identificados previamente pelo proprietário, foram identificados individualmente por meio de brincos numéricos aplicados à primeira visita. Todas as propriedades foram georreferenciadas.

As tuberculinas foram inoculadas por via intradérmica na dosagem de 0,1 mL, atentando-se para a formação de uma pápula no local, indicando a correta inoculação da tuberculina. A inoculação de tuberculinas foi realizada sempre de um mesmo lado dos animais, na região escapular à 20cm da cernelha, sendo a PPD aviária cranial a espinha da escápula e a tuberculina PPD bovina caudal a espinha da escápula, havendo uma distância mínima de 15 a 20 cm entre as duas inoculações. Os locais foram demarcados por tricotomia, evitando-se áreas com lesão ou nódulos de parasitos. A espessura da dobra da pele foi 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 foram anotadas nos respectivos campos do formulário específico (Anexo I) para testes de brucelose e tuberculose, conforme modelo disponibilizado no Manual de Procedimentos para Realização de Estudos Epidemiológicos de Brucelose e Tuberculose e Brucelose em Bovinos e Bubalinos (BRASIL, 2014). A leitura dos

resultados foi realizada após 72 ± 6 horas da inoculação, sendo 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 utilizado. O aumento da espessura da dobra da pele foi calculado da seguinte forma: da medida da dobra da pele 72 horas após a inoculação, subtraiu-se a medida da dobra da pele tomada no dia da inoculação para a tuberculina PPD aviária (ΔA) e para a tuberculina PPD bovina (ΔB), anotando-se nos respectivos campos do formulário. A diferença de aumento da dobra da pele provocado pela inoculação da tuberculina PPD bovina (ΔB) e da tuberculina PPD aviária (ΔA) foi calculada subtraindo-se ΔA de ΔB . Os resultados das diferenças ($\Delta B - \Delta A$) foram interpretados de acordo com os critérios definidos na Tabela 1, extraída do Regulamento Técnico do PNCEBT (BRASIL, 2017).

Tabela 1. Interpretação do teste cervical comparativo (TCC) após inoculação das tuberculinas aviária (ΔA) e bovina (ΔB) para diagnóstico de tuberculose.

	$\Delta B - \Delta A$ (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

Um questionário (Anexo II) foi aplicado em todas as propriedades estudadas, conforme o Manual de Procedimentos para Realização de Estudos Epidemiológicos de Brucelose e Tuberculose e Brucelose em Bovinos e Bubalinos (BRASIL, 2014) a fim de estabelecer possíveis fatores de risco associados à ocorrência da tuberculose em rebanhos de bubalinos no

Distrito Federal, bem como conhecer o perfil produtivo da bubalinocultura local. As informações foram coletadas com o auxílio de tablets utilizando-se formulários Google Forms[®]. Foram obtidas informações sobre o tipo de exploração, criação e práticas de manejo (especialmente em rebanhos leiteiros), número de animais e raças de bubalinos, produção leiteira diária, uso de inseminação artificial, presença de outros animais (domésticos e silvestres), assistência veterinária, compra e venda de animais, compartilhamento de itens ou funcionários, características físicas das propriedades, diagnósticos prévios para tuberculose, entre outras informações.

As informações coletadas a campo a partir do questionário, bem como as medidas das espessuras das dobras da pele constantes dos formulários foram digitadas em planilhas do Programa Excel constituindo um banco de dados para as análises estatísticas.

Análises estatísticas

A análise dos dados foi realizada no Laboratório de Epidemiologia Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília (Epiplan/FAV/UnB), com auxílio do software STATA[®], versão 12 (STATA CORP, 2011), a fim de definir a prevalência da tuberculose em rebanhos e em animais, existência de possíveis associações entre as variáveis e a presença da enfermidade, bem como características produtivas significativas das explorações de bubalinos no Distrito Federal.

A prevalência de tuberculose em rebanhos baseou-se na razão simples entre propriedades classificadas como positivas e o total de propriedades estudadas, considerando tratar-se de estudo censitário envolvendo a totalidade das propriedades e de seus animais. De forma análoga, a prevalência de tuberculose em animais baseou-se na razão simples entre o total de animais reagentes positivos e o total de animais da população distrital de bubalinos.

Como etapa inicial de identificação dos possíveis fatores de risco, após análise exploratória dos dados, as variáveis quantitativas foram convertidas em categóricas, para utilização na análise univariada pelo teste do Qui-Quadrado (χ^2). Isto permitiu a discussão do efeito de cada categoria de cada variável analisada em relação à presença da doença no rebanho e estimativa da Odds Ratio.

RESULTADOS

Prevalência de rebanhos e de animais

As prevalências aparentes de rebanhos e búfalos foram, de 11,76% e 0,56%, respectivamente, conforme mostram as Tab. 2 e 3.

Tabela 2. Prevalência aparente de rebanhos para tuberculose bubalina no Distrito Federal.

Nº de rebanhos	Nº de rebanhos positivos	Prevalência aparente (%)
17	2	11,76

Tabela 3. Prevalência aparente de animais para tuberculose bubalina no Distrito Federal.

Nº de animais	Nº de animais positivos	Prevalência aparente (%)
581	3	0,52

No decorrer do estudo foram tuberculinizados um total de 582 animais, permitindo-se a conclusão dos resultados em 581 destes, em decorrência da exclusão de um animal de um plantel no intervalo entre a inoculação e a leitura dos resultados. Destes 581 animais testados, obteve-se um total de três reagentes positivos em duas propriedades distintas, com dois animais em uma e um em outra. Treze dentre todos os animais testados, distribuídos em sete rebanhos distintos, tiveram resultado inconclusivo e foram submetidos a um segundo teste de diagnóstico

com um intervalo mínimo de 60 dias entre os testes, conforme determina o Regulamento do PNCEBT, resultando todos negativos ao segundo teste. Na Tab. 4, são demonstrados os resultados de leitura das medidas mensuradas das espessuras de dobras de pele dos três bubalinos com resultado positivos no TCC. Observou-se que nenhum animal do estudo apresentou sinal clínico compatível com tuberculose previamente às inoculações. Dos três animais reagentes positivos, dois apresentaram dor e posterior necrose no local da inoculação da PPD bovina, sendo estes pertencentes ao mesmo rebanho.

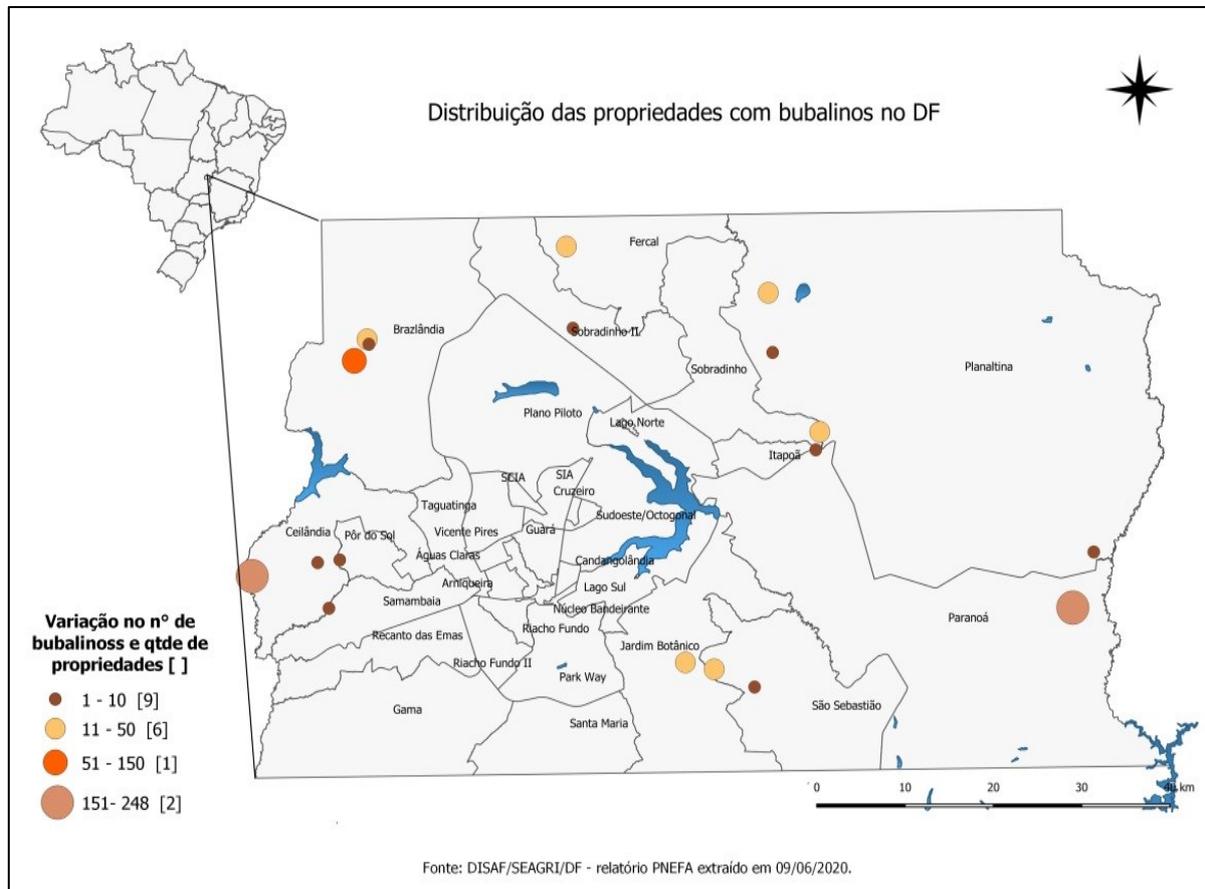
Tabela 4. Leitura das medidas de espessura das dobras de pele (mm) dos búfalos reagentes positivos ao teste cervical comparativo (TCC).

Animal	A0	A72	A72-A0 (ΔA)	B0	B72	B72-B0 (ΔB)	ΔB-ΔA
1	14,4	14,4	0,0	14,6	18,7	4,1	4,1
2	19,0	24,4	5,4	22,0	37,0	15,0	9,6
3	15,0	23,5	8,5	16,0	30,0	14,0	5,5

A0 – Espessura da dobra de pele antes da inoculação da tuberculina aviária, A72 – Espessura da dobra de pele 72± 6 horas após a inoculação da tuberculina aviária, A72-A0 – Diferença entre A72 e A0, B0 – Espessura da dobra de pele antes da inoculação da tuberculina bovina, B72 – Espessura da dobra de pele 72± 6 horas após a inoculação da tuberculina bovina, B72-B0 – Diferença entre B72 e B0, ΔB-ΔA – Diferença entre os resultados das leituras das tuberculinas bovina e aviária.

A Fig. 2 mostra a dispersão geográfica das propriedades estudadas no Distrito Federal. Evidencia-se que as duas propriedades positivas ficam localizadas nas regiões administrativas (RAs) Brazlândia e Por do Sol.

Figura 3 - Distribuição geográfica das propriedades avaliadas para tuberculose bubalina no Distrito Federal de acordo com o tamanho dos seus rebanhos.



Análise descritiva das propriedades

A análise exploratória dos dados permitiu obter informações de caracterização da bubalinocultura local, conforme mostra a Tab. 5. A raça predominante foi a Murrah (70,6%), seguida da Jaffarabadi (17,6%) e Mediterrâneo (11,8%). Das propriedades analisadas, 75% (13/17) possuíam até 38 animais e somente duas propriedades possuíam mais de 100 animais.

Tabela 5. Características das explorações de propriedades de bubalinos no Distrito Federal (2019).

Variável		Número de propriedades	(%)
Perfil da propriedade	Produção agropecuária	12	70,59
	Lazer e pet	5	29,41
Raças predominantes	Murrah	12	70,59
	Mediterrâneo	2	11,76
	Jafarabadi	3	17,65
Tamanho do rebanho	1 a 10 animais	9	52,94
	11 a 50 animais	5	29,41
	51 a 150 animais	1	5,88
	151 a 248 animais	2	11,76
Tipo de exploração	Corte	4	23,53
	Leite	8	47,06
	Mista	5	29,41
Tipo de criação	Confinado	1	5,88
	Semi-confinado	16	94,12

O tamanho médio dos rebanhos foi de 34 animais, mas este número foi influenciado pelas poucas propriedades grandes; a mediana foi de oito animais, conforme mostra a Fig. 4. Observou-se que o quantitativo de búfalos dos plantéis locais é destinado principalmente às explorações leite e mista (Fig. 5).

Figura 4. Tamanho dos rebanhos de bubalinos do Distrito Federal.

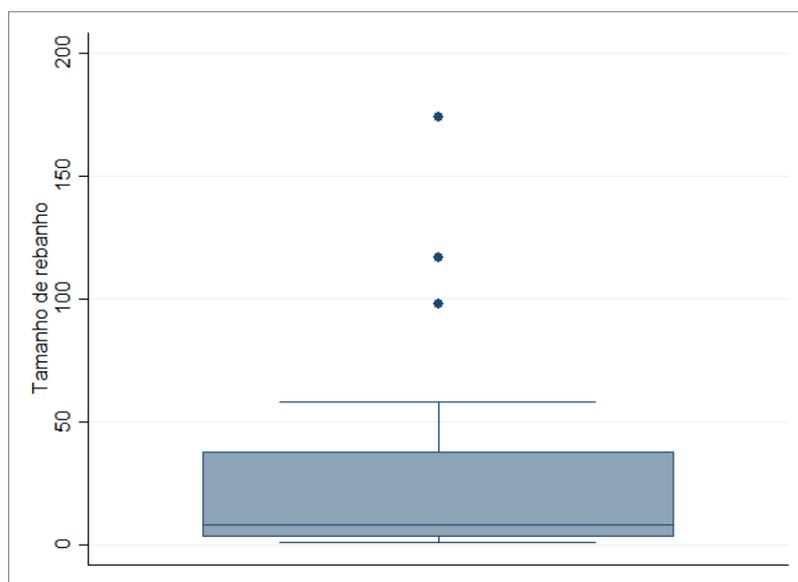
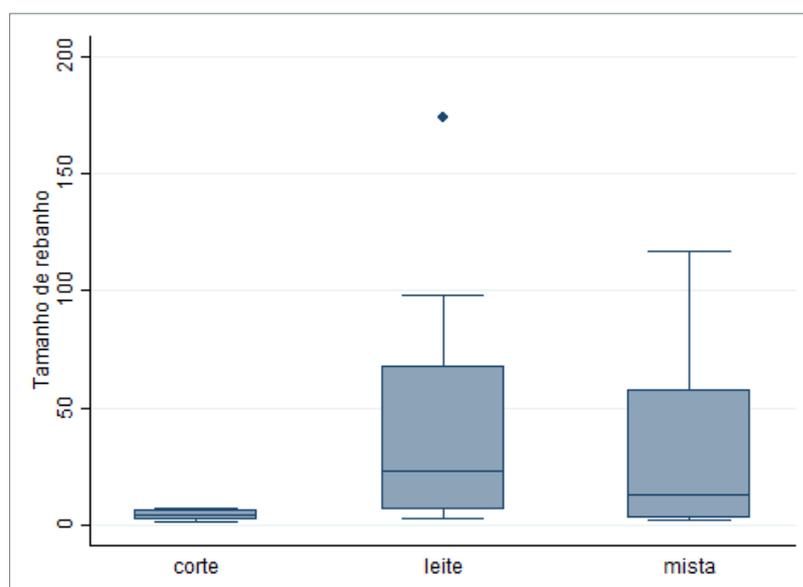


Figura 5 - Tamanho dos rebanhos de bubalinos do Distrito Federal, estratificados por atividade produtiva das propriedades.



Cerca da metade das propriedades estão voltadas para a produção exclusiva de leite (8/17), enquanto que 30% possuíam exploração apenas mista (5/17) e quatro propriedades se

dedicam a produção de bubalinos de corte. O principal sistema de criação adotado é o semi-confinado (94,1%) e apenas uma propriedade adota o sistema confinado. A prática de concentração de gado em currais foi citada por cinco das 16 propriedades que concentram os animais, as demais mantêm os animais em piquetes ou áreas alagadiças, indicando infraestrutura bem básica na produção.

As 13 propriedades que afirmaram ordenhar indicaram que realizam a prática apenas uma vez ao dia. A ordenha manual é a mais frequente (8/17), no entanto cinco propriedades faziam uso da ordenha mecânica. A mediana de búfalas em lactação foi de 3, e a produção diária das propriedades variou entre 4 e 300 litros de leite por dia, com mediana de 8 litros.

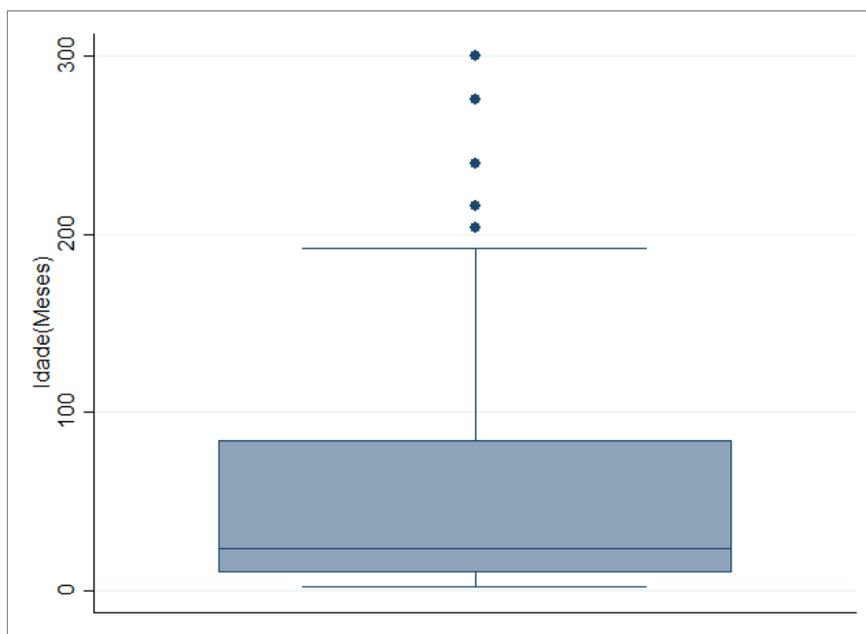
Cerca de 70% (12/17) das propriedades de bubalinos do DF produziam queijo ou manteiga, mesmo não possuindo produção de leite comercial. Em sete delas a produção era para consumo próprio. Em relação às propriedades com produção de leite, cinco afirmaram entregar leite direto ao consumidor ou ao laticínio. Somente duas disseram fazer o resfriamento do leite, em tanques próprios. Cinco produtores informaram consumir leite cru. Somente uma propriedade afirmou utilizar inseminação artificial, enquanto que as demais usam monta natural.

A presença concomitante de outras espécies domésticas nas propriedades foi observada como prática comum e as mais citadas foram equinos, aves, suínos e gatos. A presença de animais silvestres foi identificada por 14 dos 17 proprietários.

A aquisição de animais nos últimos dois anos foi relatada por oito das 17 propriedades, usualmente em outras fazendas ou por meio de comerciantes de gado. A compra em exposições ou leilões, cujas garantias sanitárias podem ser mais facilmente inferidas, não foram citadas. O quantitativo de animais adquiridos variou entre 1 e 112 animais. A venda de animais ocorreu em oito das 17 propriedades, e em mais de 50% delas, o quantitativo foi de um animal.

Dez das 17 propriedades afirmaram abater animais no final da vida reprodutiva e a metade relatou abater na própria fazenda ou em estabelecimentos sem inspeção veterinária. As demais propriedades que afirmaram não abater animais demonstraram, de forma observacional, a existência de relações de caráter afetivo com os animais da criação, por estima ou finalidade exclusiva de lazer da propriedade. Outra característica de ordem observacional diz respeito à longevidade da espécie, ao se deparar durante o estudo com animais com idade bem avançada comparada a explorações de bovinos. Destaca-se a existência de búfalos que ultrapassavam 25 anos de idade em pelo menos duas das propriedades, em plena atividade produtiva e reprodutiva, o que reforça o valor afetivo destes animais para seus proprietários, desprovidos de qualquer intenção de comercializá-los ou abatê-los ao final da vida produtiva. Em uma terceira propriedade, o caráter afetivo foi reforçado pela simples manutenção de três bubalinos como animais de estimação. A Fig. 6 mostra em box-plot a distribuição dos animais testados por idade, demonstrando a presença de animais com idade superior a 200 meses em rebanhos do Distrito Federal.

Figura 6 - Representação em box-plot da idade de bubalinos no Distrito Federal.



Cerca de 65% das propriedades afirmaram possuir assistência veterinária particular ou da cooperativa. O compartilhamento de aguadas, o aluguel de pastos ou a presença de pastos comuns entre propriedades não foram práticas comumente observadas nas propriedades de bubalinos do DF. Já o compartilhamento de itens, como equipamentos é mais frequente.

A alimentação dos animais com soro de leite não é comum, sendo citada por apenas uma das 17 propriedades do DF. A presença de áreas alagadiças é comum nas propriedades de criação de búfalos. As principais variáveis relacionadas ao sistema de produção das explorações de bubalinos no Distrito Federal estão relacionadas na Tab. 6.

Tabela 6. Características produtivas das explorações de bubalinos no Distrito Federal (2019).

Variável	Sim		Não	
	Número de Propriedades	(%)	Número de Propriedades	(%)
Presença de produção leiteira	13	76,47	4	23,53
Possui ordenha mecânica	5	38,46	8	61,54
Há produção de derivados lácteos na propriedade	12	70,59	5	29,41
Realiza entrega de leite	5	29,41	12	70,59
Possui tanque de resfriamento de leite	2	11,76	15	88,24
Possui assistência veterinária	11	64,71	6	35,29
Já testou animais para tuberculose	3	17,65	14	82,35
Utiliza inseminação artificial	1	5,88	16	94,12
Realiza compra de animais para reposição	8	47,06	9	52,94
Realiza abate de animais	10	58,82	7	41,18
Há compartilhamento de pastagem	5	29,41	12	70,59
Presença de áreas alagadiças na propriedade	13	76,47	4	23,53
Presença de animais silvestres na propriedade	14	82,35	3	17,65

Análises de fatores de risco

O único fator que se revelou associado a tuberculose nas propriedades de bubalinos do DF foi a variável tipo de exploração corte ($\chi^2 = 7.37$, $p=0.025$), conforme Tab. 7. O reduzido número de rebanhos e casos positivos, combinados ao pequeno número de rebanhos e de animais da população envolvida e aos níveis de significância estatística superiores a 0,05 demonstrado pelas demais variáveis analisadas, impossibilitaram a utilização de modelo de regressão logística por meio de análise multivariada, restringindo-se as análises ao modelo estatístico de análise univariada pelo teste do Qui-Quadrado.

Tabela 7. Análise univariada com a variável tipo de exploração, testada para associação com rebanhos positivos para tuberculose.

Variável	Rebanhos			χ^2	p-valor ¹
	Positivos	Negativos	Total		
Tipo de exploração	Corte	2 50,00%	2 50,00%	4 100%	7.3667 0.025
	Leite	0 100,00%	8 0,00%	8 100%	
	Misto	0 100,00%	5 0,00%	5 100%	
	Total	2 88.24%	15 11.76%	17 100%	

¹p-valor ao Teste do Qui-Quadrado (χ^2).

De acordo com os resultados observados nas Tab. 8 e 9, a possibilidade de detecção de tuberculose (Odds Ratio) em rebanhos de propriedades com tipo de exploração corte foi 2,24

vezes maior em relação às demais modalidades de exploração de bubalinos no Distrito Federal, com nível de confiança de 95%.

Tabela 8. Análise univariada com a variável tipo de exploração, testada para associação com rebanhos bubalinos positivos para tuberculose no Distrito Federal.

	Expostos (corte)	Não Expostos (outros)	Total	Proporções de expostos
Casos	2	0	2	1,0000
Controles	2	13	15	0.1333
Total	4	13	17	0,2353

Tabela 9. Odds Ratio em análise univariada com a variável tipo de exploração, testada para associação com rebanhos bubalinos positivos para tuberculose no Distrito Federal.

Variável	Odds Ratio	Nível de Confiança	χ^2	p-valor
Tipo de exploração corte	2.24	95%	7.37	0,0066

À exceção do tipo de exploração corte, não foi encontrada outra associação significativa entre a ocorrência de tuberculose e as demais variáveis reconhecidas por representarem mecanismos de propagação da doença entre rebanhos. Tal resultado, entretanto, pode ser consequente ao baixo poder discriminante destas variáveis na população estudada e o baixo quantitativo de focos detectados.

DISCUSSÃO

Os dados do presente estudo mostram que a tuberculose acomete rebanhos de bubalinos no Distrito Federal, com índices de prevalência em rebanhos de 11,76% e em animais de 0,52%. Entretanto, essas prevalências podem ser superiores às observadas considerando a ausência de critérios específicos de interpretação dos resultados de testes de tuberculinização intradérmica para bubalinos nas condições brasileiras. Além disso, considerando tratar-se de estudo censitário, todas as categorias de animais, sem distinção de sexo ou idade, foram incluídas. Tal fato pode ter contribuído para resultados falso-negativos, tendo em vista que foram tuberculinizados animais com idade inferior a seis semanas, idade não eletiva para a realização de testes de tuberculose tanto em bovinos quanto em bubalinos, conforme critério definido em normas do Regulamento do PNCEBT. Acrescenta-se também a realização de testes em fêmeas em período pré e pós-parto, estágios sabidamente imunodepressores na espécie bovina, que podem levar à obtenção de resultados falso-negativos aos testes de tuberculinização, sobre os quais ainda não se sabe se a espécie bubalina se comporta de forma similar. Outra possibilidade de resultados falso-negativos refere-se a possível existência de animais anérgicos nos rebanhos.

A prevalência em animais foi similar à observada na mesma unidade federativa em estudo epidemiológico realizado na população bovina em 2015 (0,89%) (NASCIMENTO, 2015). Entretanto, a prevalência de rebanhos em bubalinos foi superior à observada anteriormente em bovinos (3,44%) (NASCIMENTO, 2015). Esse fato se deve ao reduzido número de propriedades que criam búfalos no DF, em comparação ao número de criatórios existentes de bovinos. Embora essa importante enfermidade zoonótica seja amplamente estudada em bovinos, em vários países e em algumas regiões do Brasil, a mesma atenção não tem sido dedicada aos bubalinos. Outros estudos similares realizados em outros estados do Brasil encontraram prevalências de tuberculose em animais superiores ao do presente trabalho:

20,4% no Amazonas (MOTA et al., 2002), 14,8% no Amapá (MINHARRO et al., 2016), 13,54% e 7,58% no Maranhão (DE SOUSA., 2013; PEREIRA et al., 2009) e 8,11% em São Paulo (FREITAS et al., 2001). Ademais, lesões sugestivas de tuberculose foram responsabilizadas como causa de condenação em 2,95% (1.179/39.972) das carcaças de búfalos abatidas no Amapá (SILVA et al., 2014).

Tratando-se a presente investigação de um estudo censitário foi possível calcular os parâmetros populacionais sem as incertezas atribuídas ao processo amostral. No entanto, destaca-se que os índices de prevalência observados se tratam de prevalências aparentes, dado que, para o cálculo das prevalências reais é preciso considerar os valores de sensibilidade e especificidade dos testes de diagnóstico utilizados, assim como suas peculiaridades para aplicação na espécie animal alvo do trabalho, ainda não definidos para bubalinos no Brasil, sendo empregados os mesmos parâmetros definidos para bovinos a fim de estabelecer o resultado positivo ao TCC.

As duas propriedades com animais reagentes positivos ao TCC se localizam em regiões administrativas distintas do Distrito Federal, sendo distanciadas geograficamente e sem nenhum vínculo estabelecido, demonstrando a dispersão da doença no território local e ausência de concentração de focos.

Com relação aos possíveis fatores de risco analisados, apenas a exploração corte foi associada significativamente à positividade da enfermidade. O baixo número de búfalos positivos pode ter contribuído para a não confirmação de outros fatores de risco analisados (DOHOO; MARTIN; STRYHN., 2010). Os estudo nacionais que avaliaram fatores de risco associados à tuberculose em bubalinos demonstraram que a exploração corte, a raça e o estado reprodutivo não estão relacionados à enfermidade. Os autores sugeriram que os sistemas extensivos dificultam a transmissão do agente devido ao menor contato entre os animais (BARBOSA et al., 2014; CARNEIRO et al., 2019). Em bovinos, outros estudos tem

demonstrado o tamanho do rebanho como fator de risco para tuberculose, de modo que a probabilidade de ocorrência da doença aumenta em função do tamanho dos rebanhos em decorrência de maior possibilidade de contato entre animais infectados e sadios (SILVA et al., 2014). Em outra investigação envolvendo bovinos, a atividade leiteira, associada a rebanhos maiores ou com maior grau de tecnificação, foi apontada como fator de risco para a tuberculose, devido a favorecer maior concentração dos animais (VELOSO, 2014). Na Etiópia, a idade avançada foi considerada importante fator de risco para tuberculose em bovinos, o que analogamente, pode ser considerado para a criação de bubalinos na transmissão da enfermidade, em vista da longevidade maior da espécie comparativamente aos bovinos, tendendo esses animais a permanecerem por tempo maior nos rebanhos, em atividade produtiva e reprodutiva (TSCHOPP et al., 2009).

A análise dos questionários aplicados em todas as propriedades de bubalinos da região demonstraram outras características locais peculiares, que incluíam desde explorações voltadas para a produção leiteira não comercial, em sua maioria, até a manutenção de búfalos como simples animais de estimação. A maior parte das explorações apresentou baixo nível de adoção de tecnologias pecuárias, baixa produtividade e controle sanitário deficitário, incluindo as medidas preconizadas para a tuberculose.

Apesar de não evidenciada associação significativa entre a ocorrência da tuberculose e o consumo de leite cru, vale ressaltar a importância para a saúde pública devido ao hábito encontrada em algumas propriedades da região, com o risco de ingestão de diversos patógenos potencialmente relacionados a toxinfecções alimentares ou zoonoses, incluindo a tuberculose.

O reforço das atividades de vigilância já implementadas pelo serviço oficial de defesa sanitária animal associadas ao melhor conhecimento dos mecanismos de propagação da tuberculose, incluindo modalidades comerciais, circulação de animais e de seus produtos, bem como a existência, no Distrito Federal, de fundos públicos com disponibilidade de recursos

para investimentos na produção e para indenização de animais abatidos ou sacrificados por medida sanitária, podem contribuir de forma efetiva para a adoção de medidas estratégicas visando à detecção e saneamento de focos e consequentemente acelerar o processo de controle e erradicação da doença no Distrito Federal.

Os resultados deste estudo devem ser avaliados criteriosamente devido ao limitado número de explorações pecuárias e de animais envolvidos, mas certamente contribuem para o conhecimento e melhor entendimento acerca da ocorrência e distribuição da doença em rebanhos de bubalinos no Distrito Federal, sobretudo para fundamentar propostas de ordem sanitária organizadas pelo serviço veterinário oficial do Distrito Federal junto ao setor produtivo visando a evolução no controle territorial da tuberculose de acordo com PNCEBT, incluindo a possibilidade de implementação de um programa de certificação da totalidade dos criatórios de bubalinos como propriedades livres de tuberculose com o objetivo de erradicar a enfermidade nestes criatórios. Ressalta-se a necessidade de avanços mediante a realização de mais estudos epidemiológicos, sistemáticos e adicionais em outras regiões produtoras de bubalinos do país, buscando avaliar a prevalência da doença e seus principais fatores de risco, a exemplo dos estudos realizados na população de bovinos possibilitando, dessa forma, traçar melhores estratégias de controle da tuberculose, de grande importância econômica, sanitária e para a saúde pública.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, J. D.; SILVA, J. B.; RANGEL, C. P.; FONSECA, A. H.; SILVA, N. S.; BOMJARDIM, H. A.; FREITAS, N. F. Q. R. Tuberculosis prevalence and risk factors for water buffalo in Pará, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v.46, n.3, p.513–517, 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT): Manual Técnico**. Brasília, DF, 188p. 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Procedimentos – Estudos Epidemiológicos da Brucelose e Tuberculose em Bovinos e Bubalinos** - Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 18p, 2014.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 10, de 3 de março de 2017 - Fica estabelecido o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT e a Classificação das Unidades da Federação de acordo com o grau de risco para as doenças brucelose e tuberculose, assim como a definição de procedimentos de defesa sanitária animal a serem adotados de acordo com a classificação. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF. Seção 1, p. 4, 20 jun. 2017.
- CARNEIRO, P. A. M.; TAKATANI, H.; PASQUATTI, T. N.; SILVA, C. B. D. G; NORBY, B.; WILKINS, M. J.; ZUMARRAGA, M. J.; ARAÚJO, F. R.; KANEENE, J. B. Epidemiological study of *Mycobacterium bovis* infection in buffalo and cattle in Amazonas, Brazil. **Frontiers in Veterinary Science**, v.6, 434, 2019.
- DE SOUSA, V. E. **Tuberculose em búfalo (*Bubalus bubalis*, var. *bubalis* – Linnaeus, 1758): diagnóstico, avaliação da resposta alérgica, fatores de risco, georeferenciamento em rebanhos da Baixada Maranhense – MA, Brasil**. Dissertação—Universidade Estadual do Maranhão, 2013.
- DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. **Veterinary Epidemiologic Research**, 2ª Ed., Charlottetown: VER, 2010. 865p.
- FREITAS, J. A.; GUERRA, J. L.; PANETA, J. S. Características da tuberculose observada em búfalos abatidos para consumo: aspectos patológicos e identificação de micobactérias. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.38, n.4, p.170-176, 2001.
- HEIN, W. R.; TOMASOVIC, A. A. An abattoir survey of tuberculosis in feral buffaloes. **Australian Veterinary Journal**, v.57, p.543-547, 1981.
- KANAMEDA, M.; EKGATAT, M.; PACHIMASIRI, T.; WONGKASHEMCHIT, S.; SIRIVAN, C.; KONGKONG, C.; APIWATANAKORN, B.; NARONWANICHAGAN, W.; SHOYA, S.; BOONTARAT, B. The pathology of bovine tuberculosis in swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Buffalo Journal**, v.13, n.1, p.351-362, 1997.
- KEET, D. F.; KRIEK, N. P.; HUCKZERMAYER, H.; BENGIS, R. G. Advanced tuberculosis in an African buffalo (*Syncerus caffer*- Sparmann). **Journal of South African Veterinary Association**, v.65, n.2, p.79-83, 1994.

LEITE, R. C.; BASTIANETTO, E. Doenças infecciosas em búfalos. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, Supl.1, p.1-11, 2009.

MANSUR, N. K. Incidence of some zoonotic agents and tuberculosis in slaughtered buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Veterinary Medical Journal**, v.43, n.2, p.231-239, 1995.

MAPA **Indicadores.** Disponível em: <<http://indicadores.agricultura.gov.br/saudeanimal/index.htm>>. Acesso em: 27 jul. 2020.

MOTA, P. M. P. C.; LOBATO, F. C. F.; ASSIS, R. A.; LAGE, A. P.; PARREIRAS, P. M.; LEITE, R. C. Ocorrência de tuberculose em rebanhos bubalinos (*Bubalus bubalis* var. *bubalis*-Linneus, 1758) no Município de Parintins, Amazonas. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.54, n.4, p.441-443, 2002.

MINHARRO, S.; ALVES, C. M.; MOTA, P. M. P. C.; DORNELES, C. M. S.; ALENCAR, A. P.; SANTOS, R. M.; LEITE, B. M.; LAGE, A. P. Tuberculosis in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in the Baixo Araguari Region, Amapá, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.37, n.2, p.885-890, 2016.

NASCIMENTO, G. T. **Prevalência e fatores de risco da tuberculose bovina no Distrito Federal.** Brasília: Universidade de Brasília, 2015. 66p. Dissertação Mestrado em Saúde Animal.

OIE (World Organization for Animal Health). Bovine tuberculosis. Disponível em: <<https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/bovine-tuberculosis/>>. Acesso em: 18 maio 2020.

PEREIRA, H. M.; SANTOS, H. P.; BEZERRA, D. C.; ARAGÃO, A. C. C.; SOUSA, V. E. Ocorrência de tuberculose em rebanho bubalino (*Bubalus bubalis* VAR. BUBALIS-LINNEUS, 1758) em uma propriedade do município de Arari, Maranhão, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Supl.1, 2009, p.546-550.

PEREIRA, J. D. B.; CERQUEIRA, V. D.; BEZERRA JÚNIOR, P. S.; OLIVEIRA BEZERRA, D. K.; ARAÚJO, F. R.; DIAS, A. C. L.; ARAÚJO, C. P.; RIET-CORREA, G. Diagnóstico histopatológico e molecular de lesões sugestivas de tuberculose em búfalos abatidos nos municípios de Macapá e Santana, estado do Amapá. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n.11, p.1198–1204, 2017.

PORTUGAL, M. A. S. C.; GIORG, W.; SIQUEIRA, P. A. Ocorrência de tuberculose em bubalinos (*Buballus bubalis* var. *Bubalis lineus*, 1758) no Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.4, n.1, p.231-238, 1971.

SILVA, L. B. A.; ESTEVES, C.; FARIA, P. B.; TEIXEIRA, J. T.; ARAÚJO, T. S. Prevalência de lesões sugestivas de tuberculose em bubalinos abatidos no Amapá, Brasil. **PUBVET**, v.8, n.12, 1732, 2014.

SOOD, N.; GUPTA, P. P. Prevalence of respiratory diseases of buffaloes in India. **Indian Journal of Animal Sciences**, v.56, n.4, p.406-4010, 1989.

TSCHOPP, R.; SCHELLING, E.; HATTENDORF, J.; ASEFFA, A.; ZINSSTAG, J. Risk factors of bovine tuberculosis in cattle in rural livestock production systems of Ethiopia. **Preventive Veterinary Medicine**, v.89, n.3-4, p.205–211, 2009.

VELOSO, F. P. **Prevalência e fatores de risco da tuberculose bovina no estado de Santa Catarina**. Brasília: Universidade de Brasília, 2014. 31p., Dissertação – Mestrado em Saúde Animal.

Anexo I - Planilha de leitura de resultados de de tuberculinização intradérmica.

BRUCELOSE E TUBERCULOSE EM BOVINOS E BUBALINOS - Estudo epidemiológico	
01-Identificação: Município: _____ REGIÃO: _____ UF: _____ Proprietário: _____ Propriedade: _____ Código de cadastro no serviço de defesa: _____	03 – Código do rebanho no estudo (9 dígitos) _____
02 – Data da colheita/inoculação tuerculina.e da leitura: ____/____/____ e ____/____/____	04 – Coordenadas Lat [] [] [] ° [] [] [] ' [] [] [] []" Lon [] [] [] ° [] [] [] ' [] [] [] []"

NOME DO VETERINÁRIO _____ ASSINATURA _____

44- INFORMAÇÕES SOBRE OS ANIMAIS TESTADOS					45- TUBERCULINA											46- SOROLOGIA BRUCELOSE							
					TESTE						RETESTE					resultado pos: P neg: N	AAT pos: P neg: N	SAL título	2-M E título	resultado pos: P neg: N inc: I			
					aviária			bovina			aviária			bovina							ΔB-ΔA		
n.	identificação do animal/brinco	espécie bov: 1 bub: 2	idade anos	B19 sim: 1 não: 2 ano	A0	A72	A72-A0 (ΔA)	B0	B72	B72-B0 (ΔB)	ΔB-ΔA	A0	A72	A72-A0 (ΔA)	B0	B72	B72-B0 (ΔB)	ΔB-ΔA					
1																							
2																							
3																							
4																							
5																							
6																							
7																							
8																							
9																							
10																							
11																							
12																							
13																							
14																							
15																							
16																							
17																							
18																							
19																							
20																							

interpret. tub.	
ΔB – ΔA	resultado
≤ 1,9 mm	negativo
2,0 a 3,9 mm	inconclusivo
≥ 4,0 mm	positivo

Anexo II – Questionário.

BRUCELOSE E TUBERCULOSE EM BOVINOS E BUBALINOS - Estudo epidemiológico																			
01-Identificação: Município: _____ REGIÃO: _____ UF: _____ Proprietário: _____ Propriedade: _____ Código de cadastro no serviço de defesa: _____												03 – Código do rebanho no estudo (10 dígitos) _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____							
02 – Data da colheita/inoculação tub. e da leitura: ____/____/____ e ____/____/____												04 – Coordenadas Lat ____° ____' ____" Lon ____° ____' ____" Altitude _____							
05- Tipo da Exploração: <input type="checkbox"/> corte <input type="checkbox"/> leite <input type="checkbox"/> mista 06- Tipo de Criação: <input type="checkbox"/> confinado <input type="checkbox"/> semi-confinado <input type="checkbox"/> extensivo 07- Nº de Ordenhas por dia (apenas leite e mista): <input type="checkbox"/> 1 ordenha <input type="checkbox"/> 2 ou 3 ordenhas <input type="checkbox"/> Não ordenha 08- Tipo de Ordenha (apenas leite e mista): <input type="checkbox"/> manual <input type="checkbox"/> mecânica ao pé <input type="checkbox"/> mecânica em sala de ordenha <input type="checkbox"/> Não ordenha 09- Produção de leite (apenas leite e mista): a) Nº de vacas em lactação: _____ b) Produção diária de leite na fazenda: _____ litros 10- Usa inseminação artificial? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> usa inseminação artificial e touro <input type="checkbox"/> usa só inseminação artificial 11- Raça predominante - Bovinos: <input type="checkbox"/> zebu <input type="checkbox"/> europeu de leite <input type="checkbox"/> europeu de corte <input type="checkbox"/> mestiço <input type="checkbox"/> outras raças - Bubalinos: <input type="checkbox"/> murrah <input type="checkbox"/> mediterrâneo <input type="checkbox"/> carabao <input type="checkbox"/> jaffarabadi <input type="checkbox"/> outras raças																			
12(a)- Bovinos existentes									12(b)- Bubalinos existentes										
Machos Castrados		Machos inteiros (meses)				Fêmeas (meses)				Machos Castrados		Machos inteiros (meses)				Fêmeas (meses)			
Total		0-6	6-12	12-24	> 24	0-6	6-12	12-24	> 24 <small>de reprod.</small>	Total		0-6	6-12	12-24	> 24	0-6	6-12	12-24	> 24
13- Outras espécies domesticas na propriedade: <input type="checkbox"/> ovinos/caprinos <input type="checkbox"/> equídeos <input type="checkbox"/> suínos <input type="checkbox"/> aves de quintal ou comerciais <input type="checkbox"/> cão <input type="checkbox"/> gato 14- Espécies silvestres em vida livre na propriedade: <input type="checkbox"/> não tem <input type="checkbox"/> cervídeos <input type="checkbox"/> capivaras <input type="checkbox"/> felídeos <input type="checkbox"/> marsupiais (gambá) <input type="checkbox"/> macacos <input type="checkbox"/> outros mamíferos:..... 15- Alguma vaca/búfala abortou nos últimos 12 meses? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não sabe 16- O que faz com o feto abortado e a placenta? <input type="checkbox"/> enterra/joga em fossa/queima <input type="checkbox"/> alimenta porco/cão <input type="checkbox"/> não faz nada 17- Faz testes para diagnóstico de brucelose? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim, regularidade dos testes: <input type="checkbox"/> uma vez ao ano <input type="checkbox"/> duas vezes ao ano <input type="checkbox"/> quando compra animais <input type="checkbox"/> qd. há aborto na fazenda <input type="checkbox"/> qd. exigido para trânsito/eventos/crédito 18- Faz testes para diagnóstico de tuberculose? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim, regularidade dos testes: <input type="checkbox"/> uma vez ao ano <input type="checkbox"/> duas vezes ao ano <input type="checkbox"/> quando compra animais <input type="checkbox"/> qd. exigido para trânsito/eventos/crédito 19- Nos últimos 2 anos houve introdução de bovinos ou bubalinos? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim Onde/de quem: <input type="checkbox"/> em exposição <input type="checkbox"/> em leilão/feira <input type="checkbox"/> de comerciante de gado <input type="checkbox"/> diretamente de outras fazendas 20- Introduziu fêmeas ou machos (bovinos ou bubalinos) com finalidade de reprodução? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim Onde/de quem: <input type="checkbox"/> em exposição <input type="checkbox"/> em leilão/feira <input type="checkbox"/> de comerciante de gado <input type="checkbox"/> diretamente de outras fazendas 21- Vende fêmeas ou machos para reprodução? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim A quem/onde: <input type="checkbox"/> em exposição <input type="checkbox"/> em leilão/feira <input type="checkbox"/> a comerciante de gado <input type="checkbox"/> diretamente a outras fazendas 22- Vacina contra brucelose com a B19? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim, apenas fêmeas até 8 meses de idade <input type="checkbox"/> sim, fêmeas de qualquer idade 23- Local de abate das fêmeas e machos adultos: <input type="checkbox"/> na própria fazenda <input type="checkbox"/> em estabelecimento sem inspeção veterinária <input type="checkbox"/> em estabelecimento de abate com inspeção veterinária <input type="checkbox"/> não abate 24- Aluga pastos em alguma época do ano? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim 25- Tem pastos em comum com outras propriedades? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim 26- Compartilha outros itens com outras propriedades? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim, qual: <input type="checkbox"/> insumos <input type="checkbox"/> equipamentos <input type="checkbox"/> funcionários 27- Existem na propriedade áreas alagadiças às quais o gado tem acesso? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim 28- Existe na propriedade área(s) onde o gado permanece concentrado durante o dia ou à noite? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim, qual: <input type="checkbox"/> palafitas <input type="checkbox"/> outra:..... 29- Tem piquete separado para fêmeas na fase de parto e/ou pós-parto? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim 30- A quem entrega leite (apenas leite e mista)? <input type="checkbox"/> cooperativa <input type="checkbox"/> laticínio <input type="checkbox"/> direto ao consumidor <input type="checkbox"/> não entrega 31- Resfriamento do leite (apenas leite e mista): <input type="checkbox"/> não faz <input type="checkbox"/> faz, como: <input type="checkbox"/> em resfriador ou tanque de expansão próprio <input type="checkbox"/> em resfriador ou tanque de expansão coletivo 32- A entrega do leite é feita a granel (apenas leite e mista)? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim 33- Produz queijo, manteiga ou outro lácteo na propriedade? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim, finalidade: <input type="checkbox"/> p/ consumo próprio <input type="checkbox"/> p/ venda 34- Consome leite cru ou derivado lácteo produzido com leite cru? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim 35- Tem assistência veterinária? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim, de que tipo? <input type="checkbox"/> veterinário da cooperativa <input type="checkbox"/> veterinário particular 36- Alimenta bovinos com soro de leite bovino? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim 37- Nos últimos 12 meses comprou bovinos/bubalinos: Nº de animais: De quantas fazendas?..... 38- Nos últimos 12 meses vendeu bovinos/bubalinos: Nº de animais: Para quantas fazendas?..... 39- Compartilha aguadas/bebedouros com animais de outra(s) propriedade(s)? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim 40- Propriedade possui área para pouso de boiada em trânsito? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim 41- Vacina contra brucelose é adequadamente conservada? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não respondeu 42- Vacinação contra brucelose é corretamente executada? <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não respondeu 43- Classificação da propriedade? <input type="checkbox"/> rural clássica <input type="checkbox"/> aldeia indígena <input type="checkbox"/> assentamento <input type="checkbox"/> periferia urbana																			

NOME DO VETERINÁRIO _____

ASSINATURA _____

**SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA,
ABASTECIMENTO E DESENVOLVIMENTO RURAL**

PORTARIA Nº 95, DE 19 DE SETEMBRO DE 2019

Autoriza o Estudo Epidemiológico da Brucelose e da Tuberculose no Rebanho Bubalino do Distrito Federal O SECRETÁRIO DE ESTADO DE AGRICULTURA, ABASTECIMENTO E DESENVOLVIMENTO RURAL DO DISTRITO FEDERAL, no uso das atribuições que lhe confere o art. 105, parágrafo único, inciso V, da Lei Orgânica do Distrito Federal, c/c art. 2º, da Lei nº 5.224, de 27 de novembro de 2013, e considerando:

O Disposto no Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT;

A necessidade de conhecimento da prevalência da brucelose e da tuberculose animal em rebanhos e animais da espécie bubalina no Distrito Federal como ferramenta para a planificação de estratégias e ações de controle e erradicação das enfermidades no âmbito do PNCEBT no Distrito Federal;

Os termos do Convênio nº 835.505/2016, celebrado entre a Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural do Distrito Federal e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, resolve:

Art. 1º Autorizar, no Distrito Federal, a realização do Estudo Epidemiológico da Brucelose e da Tuberculose no Rebanho Bubalino do Distrito Federal.

Parágrafo único. O estudo de que trata o caput será conduzido pela Diretoria de Sanidade Agropecuária e Fiscalização - DISAF, contando com a participação do MAPA e da Faculdade de Medicina Veterinária e Agronomia da Universidade de Brasília - FAV/UnB e seguirá os critérios estabelecidos no Manual de Procedimentos de Estudo Epidemiológico da Brucelose e Tuberculose em Bovinos, do PNCEBT.

Art. 2º A participação do produtor rural/proprietário dos animais no Estudo será voluntária, devendo ser formalizada mediante a assinatura do Termo de Compromisso, na forma do Anexo Único desta Portaria, podendo fazê-lo por meio de procurador com poderes específicos.

Art. 3º O Estudo será realizado em caráter exploratório, com finalidade de estimar as prevalências de brucelose e de tuberculose em rebanhos e animais, abrangendo a população da espécie bubalina do Distrito Federal.

Parágrafo único. Os resultados individualizados dos testes de diagnóstico, por rebanho e por animal, serão de conhecimento restrito do Serviço Veterinário Oficial, sendo facultado ao proprietário, mediante manifestação de interesse e desde que os animais reagentes positivos sejam submetidos a abate ou sacrifício sanitário firmado em Termo de Compromisso na forma do Anexo Único desta Portaria, realizado de acordo com a legislação de defesa sanitária animal vigente.

Art. 4º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

DILSON RESENDE DE ALMEIDA

Anexo IV - Termo de compromisso



GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL
SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA,
ABASTECIMENTO E DESENVOLVIMENTO RURAL
Subsecretaria de Defesa Agropecuária
Diretoria de Sanidade Agropecuária e Fiscalização

TERMO DE COMPROMISSO

Eu,,
proprietário(a) dos bubalinos existentes na propriedade denominada,
....., localizada no Núcleo Rural/Localidade de
....., no Distrito Federal, cadastrada no SIDAGRO sob
o nº, residente no endereço
....., portador(a)
do CPF nº, RG nº declaro, para
todos os fins, que participarei voluntariamente do Estudo de Prevalência da Brucelose e
da Tuberculose no Rebanho Bubalino do Distrito Federal e, para tanto, autorizo que
animais de minha propriedade sejam identificados e sejam testados para Brucelose e
Tuberculose.

Comprometo-me também a auxiliar o(s) Médico(s) Veterinário(s) da Secretaria
de Estado de Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural, no que diz respeito
à contenção e identificação dos animais, coleta de sangue, inoculação de tuberculinas,
leitura dos resultados e outros procedimentos que se fizerem necessários à conclusão
dos trabalhos do Estudo.

Declaro também estar ciente de tratar-se de Estudo de cunho exploratório, a
mim facultado o conhecimento dos resultados mediante o compromisso de eliminação
por sacrifício ou abate sanitário dos animais reagentes positivos aos testes de
diagnóstico para brucelose ou tuberculose, sob acompanhamento da SEAGRI, no prazo
máximo de 30 (trinta) dias após o resultado.

Por ser verdade, firmo o presente Termo de Compromisso.

Brasília/DF, de de 2019.

.....
Assinatura do proprietário
(ou de seu procurador)

.....
Assinatura e carimbo
Médico Veterinário/SEAGRI-DF

1ª Via: SEAGRI/DF – 2ª Via: Proprietário