

COMPARAÇÃO DE DUAS TÉCNICAS DE TUBERCULINIZAÇÃO EM BÚFALOS

LUCIANO BASTOS LOPES,¹ ARILDO PINTO DA CUNHA,² RINALDO APARECIDO MOTA³ E RÔMULO CERQUEIRA LEITE⁴

1. Aluno de doutorado do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP: 31270.901, Brasil, lublopes@hotmail.com
2. Aluno de mestrado do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP: 31270.901, Brasil, arildocunha@pop.com.br
3. Professor adjunto do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal Rural de Pernambuco, bolsista 1B CNPq, rinaldomota@bol.com.br
4. Professor adjunto do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP: 31270.901, Brasil, romulo@vet.ufmg.br

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo comparar o teste de tuberculinação simples com o teste comparativo em animais oriundos de onze rebanhos bubalinos de várias regiões do país. Os animais foram agrupados em uma única propriedade. Na primeira tuberculinação, foi utilizada a técnica simples com tuberculina mamífera inoculada na re-

gião escapular média, e, depois de transcorridos noventa dias, utilizou-se a forma comparada inoculando-se tuberculina aviária e mamífera. Os resultados demonstraram haver redução significativa ($P < 0,001$) do número de animais considerados positivos pelo método comparativo em relação à tuberculinação simples.

PALAVRAS-CHAVE: Bubalinos, tuberculose, teste de tuberculinação, *Mycobacterium bovis*.

ABSTRACT

COMPARISON OF TWO TUBERCULIN TESTS IN BUFFALOES

This research aimed to evaluate single and comparative testings of animals from 11 different buffalo herds of several regions of Brazil. The animals were maintained together in a farm in the county of Taipu (RN). The single tuberculin using mammalian antigen was used for the first

testing and after 90 days a secondary tuberculin was performed using paired avian and mammalian antigens. The results showed a significant ($p < 0,001$) reduction in numbers reagent animals as compared to double and single tuberculin testings.

KEYWORDS: Buffaloes, *Mycobacterium bovis*, tuberculosis, tuberculin testing.

INTRODUÇÃO

Na região Norte do país, a exploração de búfalos normalmente é realizada extensivamente em propriedades bastante extensas, no entanto, na época

das chuvas, há uma grande concentração de animais em algumas áreas, em decorrência das enchentes, que são frequentes na região. Nos últimos anos, esse panorama mudou com o despertar para essa nova atividade, procurando-se incrementar novos valores como os produtos lácteos, à semelhança do que

acontece na Itália e na Índia principalmente.

Pouco se sabe sobre a sanidade dos rebanhos bubalinos no país. Assim, a grande maioria dos rebanhos é trabalhada sem controle sanitário específico para a espécie e muitos dados são extrapolados da criação de bovinos. Associa-se o conceito de que os bubalinos são resistentes a várias doenças que naturalmente atingem os bovinos, de modo que alguns criadores associam a espécie à rusticidade, levando-os a criarem esses animais sem os cuidados sanitários adequados (LAU, 1990). Entretanto, os búfalos são susceptíveis à maior parte dos agentes infecciosos que acometem os bovinos (VALE, 1994). Com relação à tuberculose, o búfalo é sensível ao *Mycobacterium bovis*, assim como os bovinos (PORTUGAL et al., 1971). A ocorrência de tuberculose em rebanhos bubalinos tem sido relatada em diversos países (PORTUGAL et al., 1971; FREITAS et al., 2002). Segundo MOTA et al. (2002), a tuberculose é uma doença relevante nos criatórios bubalinos do Norte do país, sendo necessária a implantação de medidas de controle e erradicação da doença.

A tuberculose é uma doença de evolução crônica e os animais acometidos desenvolvem lesões de aspecto nodular que acometem vários órgãos como linfonodos, pulmões, baço e fígado, ocorrendo ainda a forma generalizada, que pode ocorrer em alguns animais do rebanho (MANSOUR, 1994). A tuberculose acarreta vários prejuízos, como a queda na produção de leite, a perda de peso, o descarte precoce e a morte dos animais, sendo uma das doenças de maior impacto econômico na atividade pecuária (MOTA et al., 1992).

O teste de tuberculinização tem sido empregado no diagnóstico da tuberculose bovina por mais de cem anos (MONAGHAN et al., 1994). Como nos bovinos, o teste tem sido utilizado em bubalinos de forma rotineira. No entanto, poucos são os estudos a respeito do seu emprego avaliando a sensibilidade, a especificidade, o local de inoculação e a interpretação dos resultados (PORTUGAL et al., 1971; ROXO et al., 1998).

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (BRASIL, 2001) estabelece que os critérios de interpretação

da tuberculinização para bovinos sejam empregados para os bubalinos até a definição de um padrão específico para a espécie. ROXO et al. (1998), visando estabelecer padrões de interpretação mais adequados para espécie, observaram que as reações em bubalinos são maiores quando comparadas às medidas encontradas para a espécie bovina.

Além disso, em consequência do tipo de criação, os bubalinos estão mais expostos a micobactérias atípicas, o que pode causar o surgimento de um grande número de reações falso positivas decorrentes de reações cruzadas ao PPD bovino (EID et al., 2001). Vale ressaltar que o impacto das micobactérias atípicas no diagnóstico da tuberculose em bubalinos ainda não foi bem definido (FREITAS et al., 2001).

Este trabalho visou comparar o teste de tuberculinização cervical simples com o teste cervical comparativo em animais oriundos de várias regiões do país, criados extensivamente nas condições de campo brasileiras.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se 122 animais pertencentes à Fazenda Taipu, localizada no município de Taipu, RN. Os animais eram provenientes de onze rebanhos oriundos de várias regiões do país, criados de forma extensiva e sem nenhum tipo de suplementação ou confinamento. Foram realizadas as tuberculinizações simples e comparada com o intervalo de noventa dias entre os dois testes.

Utilizou-se o PPD bovino para realização do teste simples, sendo inoculado intradermicamente 0,1 mL (5.000 UI) de antígeno na região escapular média, previamente depilada, com o auxílio de seringas de tuberculinização com dosagem automática (Mc Lintock, Glasgow, Escócia). A espessura da dobra de pele foi medida imediatamente antes da inoculação do PPD bovino com cutímetro de mola apropriado (Hauptner, Alemanha) e, depois de transcorridas 72 horas, procedeu-se a uma nova leitura para interpretação do teste.

Noventa dias após a realização do teste cervical simples, realizou-se o teste cervical comparativo, empregando-se PPD aviário (0,1 mL; 2.500

UI) e PPD bovino (0,1mL; 5.000 UI), inoculados na região escapular média cerca de 15 cm um do outro. Para leitura do teste, utilizou-se o mesmo cutímetro de mola empregado anteriormente no teste simples. Realizou-se a mensuração da espessura da dobra da pele imediatamente antes da inoculação dos derivados protéico bovino e aviário e depois de transcorridas 72 horas. As tuberculinas foram fornecidas pelo LARA de Pedro Leopoldo/MAPA, partida n°: 001/02. Para a interpretação dos resultados, baseou-se nas especificações do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), sendo considerados positivos os animais com medidas superiores a 4 milímetros. Após a identificação, os três animais

reagentes foram submetidos ao sacrifício para realização das necropsias em busca de lesões macroscópicas características de tuberculose e coleta de material como os linfonodos mesentéricos e linfonodos torácicos, para tentativa de isolamento bacteriano e histopatologia. O material foi então congelado e enviado ao LARA de Pedro Leopoldo para a realização das análises laboratoriais.

Para comparação das frequências de resultados positivos e negativos, empregou-se uma tabela de contingência segundo o teste de χ^2 ($p < 0,001$). A concordância entre os testes simples e comparativo foi calculada segundo o teste exato de Fisher com o auxílio do *software* INSTAT.

TABELA 1. Resultados dos testes de tuberculização escapular simples e tuberculização escapular comparada nos bubalinos provenientes dos onze rebanhos avaliados.

Animal N°	TB Simples	Medidas em mm	TB Comparada	Medidas em mm
AC 1851	POSITIVO	4,5	NEGATIVO	1,4
FV 020	POSITIVO	4,6	NEGATIVO	- 6,7
HCO 126	POSITIVO	6,5	SUSPEITO	2,2
HCO 127	POSITIVO	9,6	POSITIVO	4,4
HCO 128	POSITIVO	7,2	SUSPEITO	3,0
HCO 147	POSITIVO	11,1	POSITIVO	4,4
HCO 172	POSITIVO	5,1	SUSPEITO	2,7
HCO 603	POSITIVO	> 14,7	POSITIVO	9,6
HT 052	POSITIVO	5,6	NEGATIVO	- 0,3
NBP 223	POSITIVO	5,3	NEGATIVO	- 4,6
RL 1465	POSITIVO	4,0	NEGATIVO	0,6
RL 207	POSITIVO	5,0	NEGATIVO	- 3,1
RL 2122	POSITIVO	5,4	NEGATIVO	- 0,1
RL 625	POSITIVO	4,5	NEGATIVO	- 0,8
RL 629	POSITIVO	5,5	NEGATIVO	- 1,1
RL 698	POSITIVO	7,3	NEGATIVO	- 0,1
RL 749	POSITIVO	5,7	SUSPEITO	3,5
SS 255	POSITIVO	7,2	NEGATIVO	0,3
WB 1985	POSITIVO	6,0	SUSPEITO	2,7
WB 2087	POSITIVO	6,1	NEGATIVO	0,6
WB 2281	POSITIVO	5,4	NEGATIVO	- 0,6

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 122 animais do rebanho, 21 (17%) foram considerados positivos quando utilizado o método de tuberculização simples. Dentre estes animais, apenas três (2,5%) apresentaram resultados

positivos quando utilizada a técnica comparativa com tuberculina bovina e aviária, o que pode ser confirmado a partir do material coletado durante a necropsia e remetido para histopatologia. Não houve crescimento de colônias de *Mycobacterium bovis* durante os sessenta dias que sucederam a semeadu-

ra, porém, na histopatologia, encontraram-se lesões características de tuberculose, assim como ocorrem nos bovinos.

Dos restantes, treze foram considerados como negativos e cinco apresentaram resultados inconclusivos, o que sinaliza a necessidade de padronização dos testes para a espécie, demonstrando que, embora tenha sido utilizada a técnica padrão para bovinos, esta não se aplica para o rebanho bubalino.

Os testes de tuberculinização simples e comparativo, quando associados, apresentaram concordância, segundo o teste completo de Fisher. No entanto, essa concordância estatística pode estar se baseando no número de animais negativos, segundo os testes. A frequência de animais positivos apresentou variação muito grande segundo o teste. O fato de apenas três dos 21 animais serem positivos, segundo o método comparativo, sugere haver um número muito grande de reações falso-positivas dentro do rebanho. Houve redução significativa do número de animais positivos quando se utilizou o método de tuberculinização comparativo.

Os critérios de interpretação do teste de tuberculinização devem seguir o padrão recomendado para bovinos de acordo com o PNCEBT (BRASIL, 2001). No entanto, estes parâmetros devem ser revistos, assim como a sensibilidade e especificidade do teste, quando adotados para o diagnóstico da tuberculose em bubalinos (ROXO et al., 1998; MOTA et al., 2002). A elaboração de uma nova tabela de interpretação das reações alérgicas possibilitará a redução de casos de animais falso-positivos, assim como também devem ser revistos o tempo de leitura e os locais de inoculação. De acordo com RIBEIRO (2003), o ponto de corte do teste de tuberculinização simples deveria ser de $7,3 \text{ mm} \pm 1,4$ com intervalo de confiança de 95%. Para o método comparativo, o ponto de corte sugerido seria de 5,6 mm, bem acima do recomendado pelo programa atualmente, que é de 4,0 mm.

Quando adotado o ponto de corte sugerido pelo autor, dos 21 animais positivos, segundo a tuberculinização simples, apenas quatro animais atingiram a medida de 7,3 mm necessária para caracterização do animal como reagente. Para o método comparativo, apenas um animal (HCO 603) atingiria

a medida recomendada (Tabela 1). Estes resultados demonstram haver necessidade de conduzir novos estudos na tentativa de se encontrar um ponto de corte mais adequado para a espécie bubalina.

A eliminação de animais sadios causa prejuízo aos proprietários e um desgaste imenso para o veterinário responsável pelo rebanho. Em alguns dos animais positivos eliminados após a tuberculinização pelo método simples, não foram encontradas lesões tuberculosas. Micobactérias ambientais (MOTT) podem interferir no diagnóstico alérgico promovendo o surgimento de reações cruzadas, o que pode ser esperado em rebanhos bubalinos por serem manejados, em sua maioria, de forma extensiva em ambientes contaminados com essas micobactérias atípicas. Apesar da recomendação do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose, a tuberculinização pelo método simples ainda tem sido empregada rotineiramente como método conclusivo em algumas regiões do país, mesmo porque o treinamento para capacitação dos veterinários credenciados ainda não foi concluída pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

AGRADECIMENTOS

Aos alunos da graduação da Universidade Rural Federal de Pernambuco pela colaboração e apoio, em especial José Wilton Pinheiro Júnior, Isaque Albuquerque do Nascimento, Arildo Pinto da Cunha, Fernando Antônio Pinto e Rafael Filipe Vieira da Costa.

REFERÊNCIAS

BRASIL. **Instrução Normativa nº 2, de 10 de janeiro de 2001**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento, 2001.

EID, G. E.; MOUSA, I. M. I.; SELIM, S. A. K. Comparison between tuberculin test and enzyme linked immunosorbant assay for diagnosis of tuberculosis in cattle and buffaloes. **Veterinary Medical Journal Giza**, v. 49, p. 355-369, 2001.

- FREITAS, J. A.; PANETTA, J. C.; CURCIO, M. et al. Isolamento de cepas de *Micobacterium avium* em búfalos abatidos para consumo. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, p. 315-317, 2001.
- FREITAS, J. A.; PANETTA, J. C.; OLIVEIRA, J. P. et al. Some epidemiological features on water buffaloes tuberculosis in Amazon valley. In: BUFFALO SYMPOSIUM OF AMERICAS, 1st. Belém, Pará, 2002. **Anais...** Belém, Pará, 2002. p. 364-368.
- KANAMEDA, M.; EKGATAT, M.; WONGKASEMJIT, S. et al. An evaluation of skin tests used to diagnose tuberculosis in swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Preventive Veterinary Medicine**, v. 39, p. 129-135, 1999.
- LAU, H. D. Common buffalo diseases in Amazonian Brazil. **Buffalo Bulletin**, v. 9, p. 75-77, 1990.
- MANSOUR, N. K. Incidence of some zoonotic agents and tuberculosis in slaughtered buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Veterinary Medicine Journal Giza**, v. 43, p. 231-239, 1994.
- MONAGHAM, M. L.; DOHERTY, M. L.; COLLINS, J. D. et al. The tuberculin test. **Veterinary Microbiology**, v. 40, p. 111-124, 1994.
- 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.
- MOTA, P. M. P. C.; LOBATO, F. C. F.; ASSIS, R. A. et al. Ocorrência de tuberculose em rebanhos bubalinos (*Bubalus bubalis* var. *bubalis* – Linneus, 1758) no município de Parintins, Amazonas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, n. 4, p.441-443, 2002.
- PORTUGAL, M. A. S. C.; GIORGI, W.; SIQUEIRA, P. A. Ocorrência de tuberculose em rebanho Bubalino (*Bubalus bubalis*) var (*Bubalis Linneus*, 1758) no Estado de São Paulo. **Arquivo do Instituto de Biologia de São Paulo**, v. 38, p. 231-238, 1971.
- RIBEIRO, A. C. C. L. **Diagnóstico da tuberculose em búfalos: Bubalus bubalis**. Belo Horizonte, 2003. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.
- ROXO, E.; VASCONCELLOS, S. A.; PINHEIRO, S. R. et al. Evaluation of tuberculin skin reaction in buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Arquivo do Instituto de Biologia de São Paulo**, v. 65, p. 81-92, 1998.
- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 1. ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998.
- VANAMAYYA, P. R.; SHARMA, A. K.; PARAI, T. P. et al. Evaluation of tuberculin and johnin tests with pathological lesions in buffaloes. **Indian Journal Animal Science**, v. 57, p. 189-190, 1987.