

Diagnóstico de Tuberculose Animal no IPVDF:

Passado, presente e desafios futuros



GEM - IPVDF

GRUPO DE ESTUDO EM MICOBACTÉRIAS

Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária

Rua Gonçalves Dias, 570 – Bairro Menino Deus

Porto Alegre | RS – CEP: 90130-060

Telefone: (51) 3288.8000

<https://www.agricultura.rs.gov.br/ddpa>

As ilustrações utilizadas na capa foram criadas pelos autores com o auxílio de ferramentas de inteligência artificial.

Catálogo e normalização: Flávio Nunes

D537 Diagnóstico de tuberculose animal no IPVDF : passado, presente e desafios futuros / Angélica Cavalheiro Bertagnolli Rodrigues ... [et al.]. – Porto Alegre : SEAPI/DDPA, 2025.
1 e-book (36 p. : il.).

ISBN 978-65-84645-25-7

1. Tuberculose em animais. 2. Micobactérias. 3. Bovinos – Doenças. 4. Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor. I. Rodrigues, Angélica Cavalheiro Bertagnolli.

CDD 636.0896995

CDU 636.2.09:616-002.5

REFERÊNCIA

Rodrigues, Angélica Cavalheiro Bertagnolli *et al.* **Diagnóstico de tuberculose animal no IPVDF**: passado, presente e desafios futuros. Porto Alegre: SEAPI/DDPA, 2025. *E-book* (37 p.).

"Se você quiser ir rápido, vá sozinho. Se você quiser ir longe, vá junto."

Provérbio africano

DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSE ANIMAL NO IPVDF: PASSADO, PRESENTE E DESAFIOS FUTUROS

Angélica Cavalheiro Bertagnolli Rodrigues¹, Cristine Cerva²,
Mario de Menezes Coppola³, Giovana Dantas de Araújo⁴,
Bruno Dall'Agnol⁵, Flávio Silveira⁶, Fabiana Quoos Mayer⁷

¹ Pesquisadora, Médica Veterinária, Doutora em Patologia, Centro Estadual de Diagnóstico e Pesquisa em Saúde Animal Desidério Finamor (DDPA/SEAPI), Eldorado do Sul, RS. E-mail: angelica-bertagnolli@agricultura.rs.gov.br

² Pesquisadora, Médica Veterinária, Doutora em Ciências Veterinárias, Centro Estadual de Diagnóstico e Pesquisa em Saúde Animal Desidério Finamor (DDPA/SEAPI), Eldorado do Sul, RS. E-mail: cristine-cerva@agricultura.rs.gov.br

³ Pesquisador, Médico Veterinário, Doutor em Ciências Veterinárias, Centro Estadual de Diagnóstico e Pesquisa em Saúde Animal Desidério Finamor (DDPA/SEAPI), Eldorado do Sul, RS. E-mail: mario-coppola@agricultura.rs.gov.br

⁴ Pesquisadora, Bióloga, Doutora em Ciências Biológicas, Centro Estadual de Diagnóstico e Pesquisa em Saúde Animal Desidério Finamor (DDPA/SEAPI), Eldorado do Sul, RS. E-mail: giovana-araujo@agricultura.rs.gov.br

⁵ Pesquisador, Médico Veterinário, Doutor em Biologia Celular e Molecular, Centro Estadual de Diagnóstico e Pesquisa em Saúde Animal Desidério Finamor (DDPA/SEAPI), Eldorado do Sul, RS. E-mail: bruno-dallagnol@agricultura.rs.gov.br

⁶ Analista Agropecuário, Médico Veterinário, Doutor em Ciências Veterinárias, Centro Estadual de Diagnóstico e Pesquisa em Saúde Animal Desidério Finamor (DDPA/SEAPI), Eldorado do Sul, RS. E-mail: flavio-silveira@agricultura.rs.gov.br

⁷ Professor Adjunto, Biomédica, Doutora em Genética e Biologia Molecular, Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. E-mail: fabiana.mayer@ufrgs.br

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	7
ASPECTOS GERAIS DA TUBERCULOSE EM BOVINOS	8
Causa, distribuição e sintomas	8
Transmissão do agente entre os animais	10
Tuberculose zoonótica	11
Controle da tuberculose bovina	12
Diagnóstico laboratorial da tuberculose bovina.....	13
CONTRIBUIÇÕES DO IPVDF PARA DIAGNÓSTICO E PESQUISA DA TUBERCULOSE	16
Histórico de contribuição	16
Diagnóstico e pesquisa da tuberculose bovina.....	20
Diagnóstico e pesquisa da tuberculose em animais silvestres	22
Segurança dos alimentos.....	26
Outras contribuições do GEM.....	28
Principais publicações do grupo de estudos em micobactérias.....	29
SITUAÇÃO ATUAL DO GRUPO DE ESTUDOS EM MICOBACTÉRIAS E PERSPECTIVAS	32
REFERÊNCIAS	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Lesão sugestiva de tuberculose detectada no abate de bovino.

Figura 2. Lesão microscópica sugestiva de tuberculose (inflamação granulomatosa).

Figura 3. Características das colônias de *Mycobacterium* cultivadas em meios de cultivo Lowenstein-Jensen e Stonebrink.

Figura 4. (a) Detecção de DNA de *M. tuberculosis* var. *bovis* por PCR convencional (linha 2). (b) Sequenciamento do DNA amplificado.

Figura 5. Laboratório de Biologia Molecular. Sala de extração de DNA e amplificação de DNA.

Figura 6. Laboratório de Biologia Molecular. Sala de cultivo de micobactérias.

Figura 7. Resumo gráfico das atividades de diagnóstico e pesquisa realizadas pelo Grupo de Estudos em Micobactérias do IPVDF.

APRESENTAÇÃO

A tuberculose é uma doença bacteriana de evolução lenta que pode afetar os seres humanos e diversas espécies de animais domésticos e silvestres. Entre os animais domésticos a enfermidade é mais relevante para os bovinos por causar prejuízos para os pecuaristas e para a cadeia produtiva bovina (Pérez-Morote *et al.*, 2020). Além disso, os bovinos podem transmitir a doença para outros animais e para os seres humanos (Kasir *et al.*, 2023).

No Estado do Rio Grande do Sul, o Centro Estadual de Diagnóstico e Pesquisa em Saúde Animal Desidério Finamor/IPVDF, ligado ao Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária (DDPA) da Secretaria de Agricultura Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI) tem colaborado amplamente para o diagnóstico laboratorial e pesquisa da tuberculose animal.

Este material foi preparado por pesquisadores do IPVDF com o objetivo de divulgar informações atualizadas sobre a tuberculose bovina. Além disso, apresenta o trabalho que o Instituto vem desenvolvendo nos últimos anos para ajudar no diagnóstico e pesquisa da doença nos animais domésticos e silvestres e para garantir a segurança dos alimentos.

ASPECTOS GERAIS DA TUBERCULOSE EM BOVINOS

Causa, distribuição e sintomas

Em bovinos a tuberculose é causada, principalmente, pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis* variante bovis (*M. tuberculosis* var. bovis) que também é chamada de micobactéria (Gupta; Lo; Son, 2018).

A tuberculose bovina tem uma ampla distribuição global e está presente em todo o mundo, com exceção da Antártida (Ramos *et al.*, 2020). A maior prevalência de tuberculose em rebanhos bovinos é registrada na Índia (7,3%) (Ramanujam; Palaniyandi, 2023).

No Brasil, a prevalência de tuberculose varia de 0,16% a 9,0% de acordo com o estado da federação. Com base no último levantamento epidemiológico realizado em 2013, a prevalência de rebanhos bovinos infectados no Rio Grande do Sul foi de 2,8%. Houve maior concentração de casos positivos em rebanhos leiteiros e com maior número de animais (Queiroz *et al.*, 2016).

A tuberculose é uma doença de desenvolvimento lento e em geral os bovinos permanecem aparentemente saudáveis por muito tempo, o que dificulta a percepção por parte do produtor e favorece a manutenção dos animais na propriedade. Porém, mesmo sem sintomas, os animais infectados podem transmitir a bactéria para outros animais e para pessoas.

Os sinais nos bovinos podem aparecer nos estágios finais da doença, quando as lesões progredirem (Ramos; Silva;

Dellagostin, 2015). Nesses casos os sinais podem ser perda de peso, diminuição da produção de leite, tosse persistente, dificuldade respiratória, linfonodos aumentados, febre e alterações em órgãos internos, caso tenham lesões.

A doença leva à formação de nódulos firmes de coloração esbranquiçada ou amarelada com área central de necrose (granuloma tuberculóide) (Figura 1).



Figura 1. Lesão sugestiva de tuberculose detectada no abate de bovino.

Fonte: Vicenzi, J.

A rota de infecção influencia o sítio da lesão primária, por isso as lesões se localizam principalmente no trato respiratório superior e linfonodos, mas podem se disseminar para diversos tecidos e órgãos (Domingo; Vidal; Marco, 2014).

Os prejuízos para o setor produtivo pecuário podem ser decorrentes de quedas do ganho de peso, da produção de leite e de carne, ou pelo descarte precoce dos animais devido

ao adoecimento, ou necessidade de saneamento de focos da doença na propriedade. Também há perdas no abate, uma vez que a identificação de lesões sugestivas de tuberculose resulta na condenação parcial ou total da carcaça (Pérez-Morote *et al.*, 2020).

Transmissão do agente entre os animais

Os bovinos são os principais responsáveis por abrigar a bactéria e transmitir para outros indivíduos e por isso são considerados reservatórios. Diversas outras espécies de animais domésticos como suínos, equinos, ovinos, caprinos, caninos, felinos e também seres humanos podem ser acometidas. Animais silvestres como texugos, raposas, veados, búfalos, gambás, camelos, martas, ratos, antas, javalis e primatas são potenciais reservatórios silvestres da bactéria (Cousins, 2001; De Lisle *et al.*, 2008; Palmer, 2013; Santos *et al.*, 2020).

A forma mais frequente de transmissão entre os bovinos é a inalação de gotículas respiratórias contendo *M. tuberculosis* var. *bovis*, que são exaladas ou eliminadas por animais infectados que estão em contato próximo. Os terneiros também podem ser contaminados pela ingestão de colostro ou de leite oriundos de vacas infectadas. Outras formas de transmissão como a genital, congênita, dérmica e ingestão de água e alimentos contaminados com secreções e excrementos também são possíveis, mas pouco comuns em bovinos (Menzies; Neill, 2000; Skuce; Allen; McDowell, 2012).

Tuberculose zoonótica

A tuberculose zoonótica é uma forma de tuberculose em pessoas causada predominantemente por *M. tuberculosis* var. bovis, transmitida pelos bovinos. Em 2016, a Organização Mundial da Saúde estimou que 147.000 pessoas tiveram tuberculose que foi transmitida por animais (World Health Organization; Food and Agriculture Organization of the United Nations; World Organization for Animal Health, 2017).

A maior parte dos casos está concentrada em países de renda baixa e média onde as pessoas vivem em contato próximo com animais e com acesso limitado a saneamento e alimentação segura (Inlamea *et al.*, 2020).

Atualmente a tuberculose zoonótica no Brasil é subestimada, pois o país não conta com dados oficiais sobre a ocorrência de tuberculose por *M. tuberculosis* var. bovis dentre os casos da doença notificados anualmente (Brasil, 2023).

M. tuberculosis var. bovis pode ser transmitido do bovino para os seres humanos principalmente pela ingestão de leite e derivados de leite produzidos com leite cru. A inalação de gotículas contendo micobactérias oriundas de bovinos com tuberculose pulmonar também é possível (Acha; Szyfres, 2003; De La Rua-Domenech, 2006). Embora menos comum, as pessoas também podem se infectar pelo contato da pele lesionada durante a manipulação de órgãos e tecidos de animais com tuberculose (Sa'idu *et al.*, 2015).

Dessa forma, o risco de adquirir a tuberculose dos bovinos é maior para os tratadores de rebanhos infectados, trabalhadores de frigoríficos/abatedouros, trabalhadores artesanais na pasteurização do leite e fabricação de laticínios

e afins, além dos controladores de fauna silvestre (Mayer *et al.*, 2017; Brasil, 2023).

Controle da tuberculose bovina

Diante do impacto da tuberculose bovina para a cadeia produtiva bovina e para a saúde humana, em 2001 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento instituiu o Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e da Tuberculose (PNCEBT) (Brasil, 2001) com objetivos de reduzir a incidência e prevalência da doença. Uma das principais estratégias é o diagnóstico dos bovinos por meio da realização de teste alérgico-cutâneo com tuberculina (tuberculinização) e sacrifício dos animais positivos no teste. A tuberculinização consiste na aplicação na derme de um derivado proteico extraído da bactéria da tuberculose cultivada em laboratório e avaliação posterior da reação no local da aplicação. Animais que tiveram contato prévio com a bactéria da tuberculose apresentam reação inflamatória intensa no local da inoculação. O teste possibilita conhecer a ocorrência de tuberculose no rebanho e retirada nos animais positivos ao teste.

Outras medidas importantes são o controle de movimentação dos animais e de participação dos bovinos em exposições, feiras e leilões, a detecção de lesões tuberculosas, realizada pelo serviço de inspeção de carcaças durante o abate e o diagnóstico laboratorial.

Diagnóstico laboratorial da tuberculose bovina

A identificação da bactéria nas lesões suspeitas por meio de exames laboratoriais é importante para a confirmação e notificação da doença e para a produção de dados epidemiológicos. Os exames são geralmente realizados para a confirmação da infecção em bovinos que são positivos no teste tuberculínico oriundos de propriedades livres de tuberculose ou para aqueles positivos no teste tuberculínico, que não apresentam lesões visíveis. A análise laboratorial também pode ser realizada para comprovação da presença das bactérias em lesões sugestivas de tuberculose detectadas na necropsia ou durante a inspeção em abatedouros (Brasil, 2017). Outra aplicação é a detecção das bactérias em amostras de leite e de produtos de origem animal.

A confirmação laboratorial pode ser feita por meio da identificação microscópica de inflamação granulomatosa (Figura 2) por exame histopatológico e detecção das bactérias na lesão (Varello *et al.*, 2008).

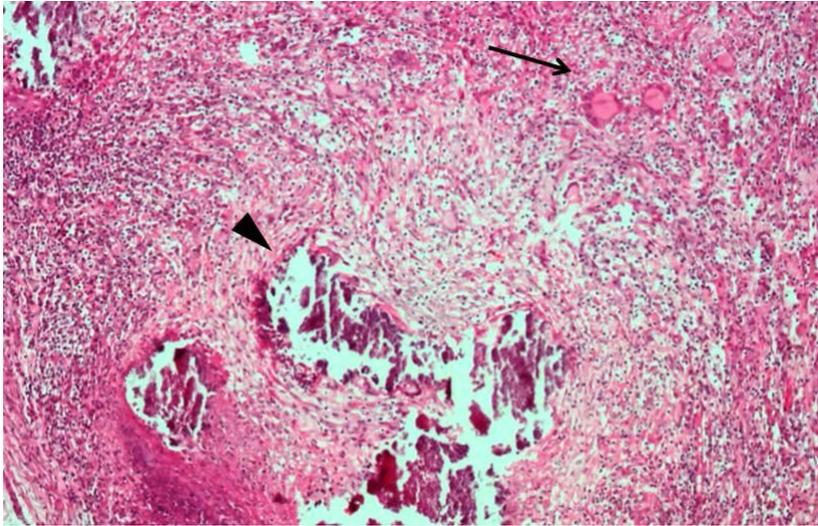


Figura 2. Lesão microscópica sugestiva de tuberculose (inflamação granulomatosa). Observa-se reação linfocitária acompanhada de macrófagos epitelióides, células gigantes de Langhans (seta) e área central de necrose caseosa com mineralização (cabeça de seta). Coloração de Hematoxilina e eosina.

Fonte: Angélica Cavalheiro Bertagnolli Rodrigues Arquivo do Laboratório de Histopatologia/IPVDF

O diagnóstico laboratorial considerado padrão-ouro é o exame de cultura bacteriana em amostras de lesões suspeitas, que pode ser associada ou não à detecção do material genético dos isolados por PCR para a identificação da espécie (Figura 3) (Mishra *et al.*, 2005).



Figura 3. Colônias de *Mycobacterium* cultivadas em meio de cultivo Stonebrink.

Fonte: Fabiana Quoos Mayer

Também é possível realizar a detecção do material genético da bactéria a partir de lesões sugestivas por técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) (Figura 4) (Lorente-Leal *et al.*, 2019).

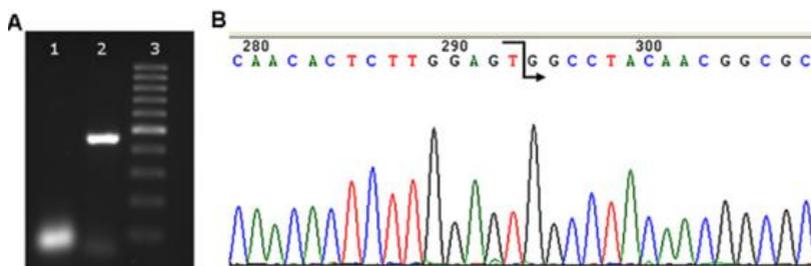


Figura 4. (a) Detecção de DNA de *M. tuberculosis* var. bovis por PCR convencional (linha 2) a partir de amostra de pulmão de um cateto. (b) Sequenciamento do DNA amplificado; a seta evidencia a deleção de 12.7 kb, compatível com *M. tuberculosis* var. bovis. Fonte: Mayer *et al.*, 2012.

CONTRIBUIÇÕES DO IPVDF PARA DIAGNÓSTICO E PESQUISA DA TUBERCULOSE

Histórico de contribuição

O IPVDF teve origem no Laboratório de Biologia Animal, criado em 1942 e desde a criação tem atuado no desenvolvimento de pesquisas em sanidade animal, realização de análises laboratoriais com fins de diagnóstico, formação de recursos humanos e difusão de tecnologias em suas áreas de competência.

Em 1973 o IPVDF foi pioneiro na produção de tuberculina PPD (Derivado Proteico Purificado), utilizada para diagnóstico de Tuberculose em bovinos e suínos. Com isso, passou a ser a única fonte nacional de tuberculina de padrão internacional para suprir as necessidades para diagnóstico da

tuberculose animal, na época (Lobato, 2024). Nessa época também passou a contribuir para a confirmação do agente de tuberculose em lesões suspeitas por meio do cultivo bacteriano em laboratório e da inoculação da lesão em animais de laboratório sensíveis, este último método atualmente em desuso.

Em 2001, foi inaugurado o Laboratório de Biologia Molecular (LBM), que começou a se organizar primeiramente para atender as demandas da Brucelose Bovina e agentes patogênicos das aves. Em 2011, com a entrada de novos colaboradores no IPVDF e com a tendência mundial de ampliação das técnicas moleculares, o laboratório começou a ser reestruturado. A infraestrutura física foi organizada para paramentação, realização de extração e amplificação de ácidos nucleicos (Figuras 5 e 6), eletroforese e esterilização, sequenciamento genético e banco de amostras. As modificações foram feitas com a finalidade de ampliar a capacidade de serviço do laboratório e de melhor adequação às exigências mínimas de biossegurança necessárias para os procedimentos laboratoriais com micobactérias.



Figura 5. Laboratório de Biologia Molecular do IPVDF, vista da sala de extração amplificação de ácidos nucleicos.



Figuras 6. Laboratório de Biologia Molecular do IPVDF, sala de cultivo de micobactérias.

Fonte: Fabiana Quos Mayer

Em 2012 começou a se formar o Grupo de Estudos em Micobactérias (GEM), coordenado na época pela Dra. Fabiana Quos Mayer. O grupo foi formado com os objetivos

de prestar serviços de diagnóstico de tuberculose animal e de desenvolver pesquisas sobre tuberculose bovina na ótica da saúde animal e saúde única (Figura 7).

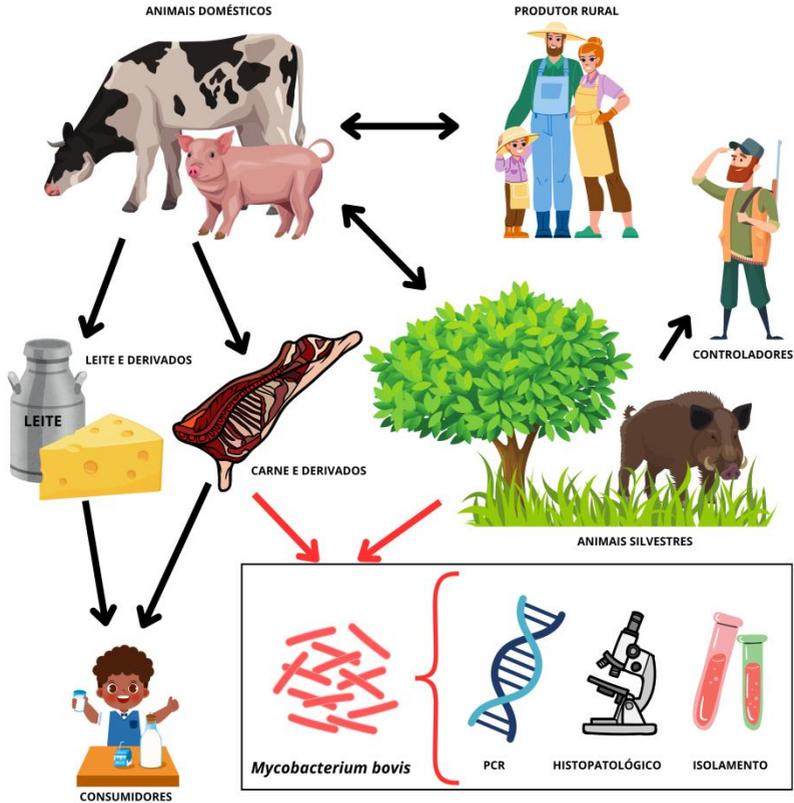


Figura 7. Resumo gráfico das atividades de diagnóstico e pesquisa realizadas pelo Grupo de Estudos em Micobactérias do IPVDF com destaque para a interconexão entre saúde animal, saúde humana e saúde ambiental.

A tuberculose bovina pode ser transmitida para outros animais, domésticos e silvestres, e para as pessoas. A confirmação laboratorial do agente da tuberculose em amostras de animais ou alimentos de origem animal, realizada no IPVDF, contribui para a vigilância da doença, para a segurança dos alimentos e para a saúde pública. As pesquisas realizadas em animais domésticos e silvestres, realizadas pelo grupo, produzem conhecimento sobre a ocorrência da doença, fundamentais para o avanço de estratégias de diagnóstico e controle, o que contribui para a saúde dos rebanhos e proteção da população. Imagem: Bruno Dall'Agnol.

A seguir serão apresentadas as principais pesquisas científicas realizadas pelo GEM nos últimos anos organizadas em três áreas de conhecimento: tuberculose em bovinos, tuberculose em animais silvestres e segurança dos alimentos.

Diagnóstico e pesquisa da tuberculose bovina

O primeiro estudo do grupo foi o desenvolvimento e validação de um método alternativo ao cultivo bacteriano para diagnóstico laboratorial de tuberculose animal, especialmente a tuberculose bovina, causada por *M. tuberculosis* var. *bovis*.

Na época, o cultivo bacteriano já era o método recomendado para o diagnóstico laboratorial *post mortem* da tuberculose bovina por apresentar especificidade e sensibilidade elevadas. Porém apresentava como desvantagens o tempo necessário para a obtenção do resultado que pode chegar a 90 dias (De Lisle *et al.*, 2008). A histopatologia pode ser usada como método complementar,

mas apresenta menor especificidade quando comparada com o cultivo bacteriano. Desta forma, a procura por métodos laboratoriais mais rápidos e factíveis se fazia necessária. As técnicas moleculares, baseadas na detecção de sequências nucleotídicas dos microrganismos estavam em pleno desenvolvimento e eram promissoras para o diagnóstico de doenças infecciosas.

Nesse sentido foi desenvolvido um estudo com apoio da Fapergs e CNPq para desenvolvimento e validação de uma PCR para detecção de *M. tuberculosis* var. bovis. O método foi validado com base nos Princípios de Validação de Métodos de Diagnóstico para Doenças Infecciosas e nos Princípios para Validação e Garantia da qualidade de ensaios laboratoriais (Raya-Rodrigues; Albano, 2009; World Organisation for Animal Health, 2014). Para a validação a PCR foi avaliada quanto ao limite de detecção, seletividade, repetitividade, reprodutibilidade, robustez, estabilidade do DNA e acurácia. Para verificar a acurácia a PCR foi aplicada em 185 amostras de lesões sugestivas de tuberculose detectadas no abate. Os resultados da PCR foram comparados com o cultivo bacteriano e histopatologia e a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e concordância entre os testes foram calculadas.

Verificou-se que a PCR apresentou sensibilidade de 45,1% e especificidade de 83,3% em comparação com o cultivo bacteriano. Já a combinação da PCR com histopatologia resultou em valor preditivo positivo de 83,9% e especificidade de 92,5% em comparação com a bacteriologia. Dessa forma, os resultados demonstraram que a PCR juntamente com a histopatologia poderiam ser usadas como

métodos de triagem, o que contribuiria para a redução do tempo de diagnóstico e mais agilidade para obtenção dos resultados.

Em 2017, o teste de PCR para detecção de *M. tuberculosis var. bovis* foi implantado na rotina de diagnóstico como método de triagem para tuberculose bovina em conjunto com a histopatologia. No LBM foi instalada uma área exclusiva para o cultivo de micobactérias que foi padronizado e passou a ser utilizado como confirmatório em amostras com teste negativo na PCR e histopatologia. Nos últimos cinco anos foram realizadas 511 detecções moleculares de micobactérias por PCR e 361 cultivos bacterianos, totalizando 872 exames realizados.

Os resultados do desenvolvimento e validação foram publicados posteriormente no artigo intitulado “A molecular strategy to optimize bovine tuberculosis *post mortem* diagnosis and the exposure to *Mycobacterium tuberculosis* variant *bovis*”, publicado na revista científica Molecular Biology Reports (Lopes *et al.*, 2020).

Diagnóstico e pesquisa da tuberculose em animais silvestres

Com a disponibilidade de um teste molecular mais rápido do que o isolamento bacteriano foi possível a detecção de *M. tuberculosis var. bovis* em animais silvestres, outro tema importante no que se refere à tuberculose. Esses animais podem ser infectados com a bactéria e servem de reservatórios para animais domésticos, além de a doença ter impacto em termos de conservação. O primeiro caso de

animal silvestre que o LBM avaliou foi de um cateto (*Pecari tajacu*), criado em um conservatório do IBAMA e que morreu juntamente com outros. O IPVDF recebeu a amostra desse animal confirmando rapidamente a infecção por *M. tuberculosis* var. bovis (Mayer *et al.*, 2012). A partir desse caso, o LBM se manteve pioneiro na pesquisa sanitária de animais silvestres, sendo o estudo aprofundado em javalis (*Sus scrofa*) de vida livre, espécie exótica de grande importância econômica e ambiental para o país.

O javali é uma espécie de porco selvagem que foi registrada pela primeira vez no Brasil em 1961. A espécie é originária da Europa, da Ásia e do norte da África e a entrada desses animais no País ocorreu, inicialmente, devido ao interesse em sua criação e caça. Na época do estudo o javali já era considerado uma espécie nociva, devido aos prejuízos causados à fauna e à flora nativas, danos às lavouras e aos processos ecológicos. Porém, pouco se conhecia sobre a saúde desses animais e o potencial para transmissão de agentes causadores de doenças. Nesse sentido, o LBM realizou um estudo coordenado pela Dra. Fabiana com apoio financeiro da Fapergs, que teve como objetivo estudar a ocorrência de tuberculose em javalis de vida livre do Rio Grande do Sul. O estudo foi realizado com a autorização do IBAMA e foi desenvolvido em parceria com agentes de manejo populacional. Para colheita das amostras, os membros da equipe do projeto acompanharam a captura dos animais na Reserva Particular do Patrimônio Natural Estadual Barba Negra no município de Barra do Ribeiro, RS e nos municípios de Herval e São Francisco de Paula. Os animais foram necropsiados no local e os pulmões e linfonodos e outros órgãos foram cuidadosamente inspecionados para

detecção de lesões sugestivas de tuberculose. Fragmentos dos órgãos foram coletados e submetidos à análise histopatológica, detecção molecular por PCR e cultivo bacteriológico.

Foram examinados 80 animais e houve crescimento de micobactérias em amostras de 24% dos animais. Os isolados foram submetidos a PCR e verificou-se que os isolados de 16 animais pertenciam ao complexo *Mycobacterium tuberculosis* e dez foram positivos para *M. tuberculosis* var. *bovis*. O estudo descreveu pela primeira vez a circulação de micobactérias nos javalis de vida livre do Brasil e chamou a atenção para o potencial desses animais como reservatórios dessas bactérias. Os resultados do estudo foram divulgados na renomada revista internacional *Transboundary and Emerging Diseases* (Maciel *et al.*, 2017).

Posteriormente, a equipe realizou a identificação da espécie de micobactéria (por sequenciamento genético) e análise da história evolutiva (filogenética) de 15 amostras de *Mycobacterium* spp. obtidas de diferentes órgãos de 13 javalis de vida livre oriundos do Rio Grande do Sul. Constatou-se que diferentes espécies de micobactérias circulavam entre os javalis avaliados, incluindo espécies com potencial zoonótico como *M. tuberculosis* var. *bovis*. O trabalho também identificou pela primeira vez em javalis brasileiros as espécies *M. mantonii* e *M. parmense*, que na época haviam sido recentemente descritas em seres humanos e no ambiente (Lopes *et al.*, 2021b). Os resultados evidenciaram a importância de evitar o contato das pessoas e outros animais de produção com os javalis.

Um achado interessante foi que vários javalis infectados por *M. tuberculosis* var. *bovis* não apresentaram

lesões visíveis de tuberculose. A ausência de lesões visíveis é preocupante, pois sugere que os animais são saudáveis e incita a manipulação das carcaças sem o devido cuidado. Com base no pressuposto de que pode haver uma relação entre o desenvolvimento das lesões de tuberculose e a ocorrência de infecções por outros patógenos, se questionou se infecções concomitantes poderiam contribuir para a ausência de lesões de tuberculose nos javalis. Nesse sentido, foi investigada a frequência de *Metastrongylus* sp. e sua relação com a infecção por *M. tuberculosis* var. *bovis* e com a ocorrência de lesões de tuberculose em javalis. *Metastrongylus* sp. é um verme pulmonar que pode ser encontrado em suínos e javalis e causar infecções respiratórias ou reduzir a imunidade dos animais.

No estudo, a ocorrência de *Metastrongylus* sp. e a detecção do DNA de *M. tuberculosis* var. *bovis* foi investigada em amostras de 77 javalis de vida livre oriundos dos municípios de Eldorado do Sul, Encruzilhada do Sul e Barra do Ribeiro. O estudo revelou uma elevada ocorrência de *Metastrongylus* sp (77,9%) entre os animais avaliados. Em 37,7% foi detectado *M. tuberculosis* var. *bovis* e destes 89,6% não tinham lesões visíveis de tuberculose. Não houve comprovação estatística da relação entre a infestação por *Metastrongylus* e a ocorrência de tuberculose, o que pode ter sido decorrente da elevada frequência de *Metastrongylus* sp. em javalis com e sem lesão (83% e 75%, respectivamente).

Contudo, é importante que se continue investigando outras possibilidades que possam explicar a ausência de lesões em animais infectados por *M. tuberculosis* var. *bovis*. Os resultados desse estudo foram publicados no artigo intitulado: "Investigation of *Mycobacterium bovis* and

Metastrongylus sp. co-infection and its relationship to tuberculosis lesions' occurrence in wild boars" (Lopes *et al.*, 2021a).

Segurança dos alimentos

Tendo em vista que a transmissão de *M. tuberculosis* var. bovis pode ocorrer pelo consumo de leite e produtos lácteos que não passaram por tratamento térmico investigou-se a presença da bactéria em leite cru de unidades agrícolas familiares do Rio Grande do Sul. Foram analisadas 502 amostras obtidas de tanques de leite e diretamente dos animais de propriedades de diferentes regiões do Estado. Em 1,99% das amostras foi detectado DNA de micobactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis* e em 1,39% foi detectado DNA de micobactérias do Complexo *Mycobacterium avium*. Entre as bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, 1,79% foram identificadas como *Mycobacterium tuberculosis* var. bovis. Conforme já mencionado, esta bactéria é o principal agente envolvido com a tuberculose bovina, que pode ser transmitida para os seres humanos principalmente pela ingestão de leite cru e derivados não pasteurizados. No Brasil, não há dados oficiais sobre os casos de tuberculose humana transmitida pelos bovinos. Contudo, os resultados do estudo indicaram que o consumo de leite não pasteurizado continua representando um risco para a população humana e reforçam a importância da conscientização sobre o consumo de lácteos não pasteurizados. Além disso, o estudo trouxe como inovação a

aplicação de uma ferramenta molecular para monitoramento da sanidade do rebanho e do leite (Bezerra *et al.*, 2015).

A inspeção de carcaças em abatedouros é uma fonte importante de monitoramento da tuberculose e também é fundamental para a segurança da carne e dos produtos cárneos, tendo em vista que carcaças com lesões sugestivas de tuberculose são retiradas do consumo. Nesse cenário, a tuberculose no contexto da inspeção da carne bovina nos abatedouros do Rio Grande do Sul foi investigada. Foram revisados os dados de condenação de bovinos por tuberculose entre abril de 2010 a março de 2020 nos abatedouros com inspeção municipal e estadual do Rio Grande do Sul. No período foram identificadas 297.817 Guias de Transporte Animal que tiveram pelo menos um animal condenado por diversos motivos. Entre essas, 2,05% tiveram pelo menos uma carcaça condenada devido a lesão sugestiva de tuberculose. Houve maior risco de condenação para fêmeas oriundas de grandes propriedades localizadas em regiões produtoras de leite. Chamou atenção a taxa de variabilidade de condenação entre diferentes estabelecimentos de abate, o que aponta para a importância de melhor padronização no procedimento de reconhecimento das lesões de tuberculose (Vicenzi *et al.*, 2023).

Em outro estudo do grupo, o foco foi a epidemiologia da condenação de carcaças de suínos por lesões macroscópicas sugestivas de linfadenite e de tuberculose em abatedouros do Rio Grande do Sul, sob inspeção estadual. Este estudo foi concebido em função de um surto de tuberculose detectado em um abatedouro de suínos e reportado também pelo grupo (Lopes *et al.*, 2021c). Verificou-se que no período de 2019 a 2021 foram abatidos 2.273,225

suínos com um total de 40,089 guias de trânsito animal. Desse total, 910 (2,27%) tiveram pelo menos um animal condenado devido a linfadenite e 11 (0,027%) por lesão sugestiva de tuberculose. O estudo também incluiu uma análise prospectiva que visou avaliar a frequência e o tipo de micobactérias associadas às lesões em linfonodos mesentéricos de suínos classificadas como linfadenites granulomatosas. No laboratório foram examinadas 118 amostras e 53 (44,91%) tiveram lesões confirmadas microscopicamente. Na cultura das amostras, dez (18,86%) apresentaram crescimento de micobactérias das quais três (2,54%) foram classificadas como *Mycobacterium tuberculosis* var. bovis e cinco (4,23%) pertencem ao Complexo *Mycobacterium avium* (Braga *et al.*, 2024). O estudo evidenciou a ocorrência de tuberculose entre as lesões granulomatosas, o que chama atenção para a importância de submeter as amostras suspeitas para confirmação laboratorial. A confirmação é importante para que medidas sanitárias sejam aplicadas na propriedade de origem dos animais a fim de controlar a tuberculose (Brasil, 2002).

Outras contribuições do GEM

Além da produção científica e tecnológica, a formação de recursos humanos também faz parte do histórico do GEM/IPVDF. Ao longo desses últimos dez anos, dois alunos de ensino médio, 17 de graduação, 18 de mestrado, oito de doutorado e um de pós-doutorado desenvolveram atividades de pesquisa orientadas pelos pesquisadores do GEM. Outros seis possuem trabalhos em andamento.

A equipe também esteve envolvida em atividades de extensão, como o treinamento de controladores cadastrados junto ao IBAMA, para colaboração nos projetos de pesquisa, com a obtenção de amostras biológicas. O laboratório teve um papel importante na educação sanitária dessas pessoas, para evitar a transmissão de doenças potencialmente veiculadas por esses animais.

Ainda, a equipe também promoveu três edições do Seminário Gaúcho de Tuberculose, que foram eventos alusivos ao Dia Mundial de Combate à Tuberculose e um seminário para Reflexões sobre Saúde Única. Nesses eventos, participaram estudantes e profissionais atuantes em diversas áreas da tuberculose humana e animal. A multiprofissionalidade possibilitou trocas de experiências, debates e reflexões importantes sobre a tuberculose no contexto da saúde única.

Principais publicações do grupo de estudos em micobactérias

ANDRADE, J. da S. *et al.* Molecular survey of porcine respiratory disease complex pathogens in Brazilian wild boars. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 206, 105698, Sept. 2022.

BEZERRA, A. V. A. *et al.* Detection of Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium avium Complexes by Real-Time PCR in Bovine Milk from Brazilian Dairy Farms. **Journal of Food Protection**, Ames, Iowa, v. 78, n. 5, p. 1037-1042, May 2015.

BRAGA, A. *et al.* Unveiling mycobacterial infections in Brazilian swine: insights from epidemiological and diagnostic studies. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 235, 106404, Feb. 2024.

CERVA, C. *et al.* Food safety in raw milk production: risk factors associated with bacterial DNA contamination. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 46, n. 6, p. 877-882, June 2014.

EHLERS, L. P. *et al.* *Mycobacterium tuberculosis* var. *tuberculosis* infection in two captive black capuchins (*Sapajus nigritus*) in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 51, n. 4, p. 2169-2173, Dec. 2020.

LOPES, B. C. *et al.* A molecular strategy to optimize bovine tuberculosis *post-mortem* diagnosis and the exposure to *Mycobacterium tuberculosis* variant *bovis*. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 47, n. 9, p. 7291-7296, Sept. 2020.

LOPES, B. C. *et al.* Investigation of *Mycobacterium bovis* and *Metastrongylus* sp. co-infection and its relationship to tuberculosis lesions' occurrence in wild boars. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, Oxford, v. 77, 101674, May 2021a.

LOPES, B. C. *et al.* Molecular identification of *Mycobacterium* spp. isolated from Brazilian wild boars. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 48, n. 1, p. 1025-1031, Jan. 2021b.

LOPES, B. C. *et al.* Tuberculosis outbreak in intensive swine farming from southern Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 51, n. 11, 2021c.

MACIEL, A. L. G. *et al.* Tuberculosis in Southern Brazilian wild boars (*Sus scrofa*): first epidemiological findings.

Transboundary and Emerging Diseases, Berlin, v. 65, n. 2, p. 518-526, Oct. 2017.

MAYER, F. Q *et al.* Nasal swab real-time PCR is not suitable for in vivo diagnosis of bovine tuberculosis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 6, jun. 2017.

MAYER, F. Q. *et al.* *Mycobacterium bovis* infection in a collared peccary (*Tayassu tajacu*): insights on tuberculosis wild reservoirs. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 160, n. 3/4, p. 549-551, Dec, 2012.

MAYER, F. Q.; BERTAGNOLLI, A. C. Finding factors associated with nasal shedding of *Mycobacterium tuberculosis* variant *bovis* in wild boar. **Veterinary Record**, London, v. 185, n. 20, p. 627-628, Nov. 2019.

MOTTA, E. L. *et al.* Impact on condemnations of bovine carcasses due to tuberculosis and cysticercosis after changes in federal legislation in the State of Rio Grande do Sul (2014-2020). **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 24, e-73611E, Jan. 2023.

VICENZI, J. MIGUEL *et al.* Condemnation of bovine carcasses due to tuberculosis-gross lesions in Rio Grande do Sul, Brazil: associated risk factors. **Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases**, Oxford, v. 102, 102063, Nov. 2023.

VIELMO, A. *et al.* Penile tuberculosis in a bull. **Journal of Comparative Pathology**, Liverpool, v. 180, p. 5-8, Oct. 2020.

SITUAÇÃO ATUAL DO GRUPO DE ESTUDOS EM MICOBACTÉRIAS E PERSPECTIVAS

O núcleo do GEM é composto por seis pesquisadores lotados no IPVDF e dois externos. Além disso, conta com colaboradores externos e estudantes que desenvolvem seus trabalhos vinculados ao LBM (dois de graduação, quatro mestrandos e quatro doutorandos). O grupo agrega profissionais com diferentes saberes que se complementam para atingir os objetivos propostos.

A enchente histórica que ocorreu em maio de 2024 causou graves danos a todo o andar térreo do IPVDF, incluindo o LBM e área destinada ao cultivo de micobactérias. Essas instalações foram invadidas por água e lama que ficaram represadas. Vários equipamentos e móveis ficaram parcialmente submersos e danificados. Além disso, refrigeradores e congeladores tombaram com extravasamento de amostras biológicas e reagentes que foram perdidos.

Diante desse cenário, o LBM foi interditado e o uso da área para atividades de diagnóstico e pesquisa está suspenso até que as instalações e equipamentos sejam recuperados. Os membros da equipe do LBM seguem trabalhando nas atividades de pesquisa iniciadas antes da enchente por meio de parcerias com laboratórios de outras instituições. Também seguem empenhados na elaboração de propostas para concorrer em Editais Públicos de fomento à Pesquisa Científica.

Considerando a trajetória de realizações e a contribuição do LBM em benefício da saúde animal e da saúde única, espera-se que logo possa retomar suas atividades e que possa continuar cumprindo suas finalidades.

REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3. ed. Washington, DC: Organización Panamericana de La Salud, 2003. 277 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa Federal nº 19, de 15 de fevereiro de 2002**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2002. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/material-genetico/registro-de-estabelecimento/arquivos/instrucao-normativa-no-19-de-15-de-fevereiro-de-2002.pdf/view>. Acesso em: 10 abr. 2025.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa Federal nº 10, de 3 de março de 2017**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2017. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pncebt/principais-normas-pncebt/in-10-de-3-de-marco-de-2017-aprova-o-regulamento-tecnico-do-pncebt.pdf/view>. Acesso em: 8 abr. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de HIV/Aids, Tuberculose, Hepatites Virais e Infecções Sexualmente Transmissíveis. **Manual com orientações clínicas e de vigilância para a tuberculose zoonótica**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2023. Acesso em: 8 abr. 2025.

BRASIL. Ministério de Agricultura e do Abastecimento. **Instrução normativa nº 2, de 10 de janeiro de 2001**.

Brasília, DF: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2001. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pncebt/principais-normas-pncebt/in-2-de-10-de-janeiro-de-2001-institui-o-pncebt.pdf/view>. Acesso em: 8 abr. 2025.

COUSINS, D. V. *Mycobacterium bovis* infection and control in and control in domestic livestock. **Revue Scientifique et Technique**, Paris, v. 20, n. 1, p. 71-85, Apr. 2001.

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**, Scotland, v. 86, n. 2, p. 77-109, Mar. 2006.

DE LISLE, G. W *et al.* Isolation of *Mycobacterium bovis* and other mycobacterial species from ferrets and stoats. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 132, n. 3-4, p.402-407, Dec. 2008.

DOMINGO, M.; VIDAL, E.; MARCO, A. Pathology of bovine tuberculosis. **Research in Veterinary Science**, Amsterdam, v. 97, p. S20-S29, Oct. 2014. Suppl.

GUPTA, R. S.; LO, B.; SON, J. Phylogenomics and comparative genomic studies robustly support division of the genus *Mycobacterium* into an emended genus *Mycobacterium* and four novel genera. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 9, article 67, Sept. 2018.

INLAMEA, O. F. *et al.* Evolutionary analysis of mycobacterium bovis genotypes across Africa suggests co-evolution with livestock and humans. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, CA, v. 2, p. 1-16, Mar. 2020.

KASIR, D. *et al.* Zoonotic tuberculosis: a neglected disease in the Middle East and North Africa (MENA) Region, **Diseases**, Basel, v. 11, n. 11, 39, Dec. 2023.

LOBATO, S. C. (org.). **Os 100 anos da pesquisa agropecuária oficial do Rio Grande do Sul**. 1. ed. Porto Alegre: SEAPI/DDPA, 2024. *E-book*. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/202408/08111551-livro-os-100-anos-pesquisa-rs-versao-final-08-08-2024-ebook.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2024.

LORENTE-LEAL, V. *et al.* Validation of a real-time PCR for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex members in bovine tissue samples. **Frontiers in Veterinary Science**, Lausanne, v. 6, n. 61, Mar. 2019.

MENZIES, F. D.; NEILL, S. D. Cattle-to-cattle transmission of bovine tuberculosis. **Veterinary Journal**, London, v. 160, n. 2, p. 92-106, Sep. 2000.

MISHRA, A. *et al.* Direct detection and identification of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* in bovine samples by a novel nested PCR assay: correlation with conventional techniques. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 43, n. 11, p. 5670–5678, Nov. 2005.

PALMER, M. V. *Mycobacterium bovis*: characteristics of wildlife reservoir hosts. **Transboundary and Emerging Diseases**, Berlin, v. 60, p. 1-13, Nov. 2013. Suppl. 1.

PÉREZ-MOROTE, R *et al.* Quantifying the economic impact of bovine tuberculosis on livestock farms in South-Western Spain. **Animals**, Basel, v. 10, n. 12, 2433, Dec. 2020.

QUEIROZ, M. R. *et al.* Situação epidemiológica da tuberculose bovina no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3647-3658, set. 2016. Supl. 2.

RAMANUJAM, H.; PALANIYANDI, K. Bovine tuberculosis in India: the need for one health approach and the way forward. **One Health**, Amsterdam, v. 30, n. 16, 100495, Jan. 2023.

RAMOS, B.; PEREIRA, A. C.; REIS, A. C.; CUNHA, M. V. Estimates of the global and continental burden of animal tuberculosis in key livestock species worldwide: a meta-analysis study. **One Health**, Amsterdam, v. 10, 100169, Sept. 2020.

RAMOS, D. F.; SILVA, P. E. A.; DELLAGOSTIN, O. A. Diagnosis of bovine tuberculosis: review of main techniques. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 75, n. 4, p. 830-837, Nov. 2015.

RAYA-RODRIGUEZ, M. T.; ALBANO F. D. M. **Validação e garantia da qualidade de ensaios laboratoriais:** guia prático. 2. ed. Porto Alegre: Rede Metrológica, 2009. 129 p.

SA'IDU, A. S. *et al.* Public health implications and risk factors assessment of Mycobacterium bovis infections among abattoir personnel in Bauchi state, Nigeria. **Journal of Veterinary Medicine**, United States, v. 2015, article 718193, 5 p, Jan. 2015.

SANTOS, N. *et al.* Quantification of the animal tuberculosis multi-host community offers insights for control. **Pathogens**, Switzerland, v. 9, n. 6, 421, May. 2020.

SKUCE R. A.; ALLEN, A. R.; McDOWELL, S. W. Herd-level risk factors for bovine tuberculosis: a literature review. **Veterinary Medicine International**, Switzerland, v. 28, 621210, June 2012.

VARELLO, K. *et al.* Comparison of histologic techniques for the diagnosis of bovine tuberculosis in the framework of eradication programs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, United States, v. 20, n. 2, p. 164-169, Mar. 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. **Roadmap for zoonotic tuberculosis**. Geneva: WHO, 2017. Disponível em: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/Tuberculosis/Roadmap_zoonotic_TB.pdf. Acesso em: 10 out. 2024.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF NUCLEIC ACID DETECTION ASSAYS. CHAP. 2.2.3. *IN*: WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**. 8th ed. Paris: OIE, 2014. Disponível em: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.02.03_NAD_ASSAYS.pdf. Acesso em: 22 dez. 2024.



GOVERNO DO ESTADO
RIO GRANDE DO SUL
SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA,
PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E IRRIGAÇÃO

Secretaria de Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação
Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária

Avenida Getúlio Vargas, 1384 - Menino Deus
CEP 90150-004 - Porto Alegre - RS
Fone: (51) 3288-8000

www.agricultura.rs.gov.br/ddpa