

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

MANUAL DO MÉDICO VETERINÁRIO HABILITADO

1ª EDIÇÃO

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA - MAPA

Ministério da Agricultura e Pecuária
Secretaria de Defesa Agropecuária

Manual do Médico Veterinário Habilitado

Missão do Mapa:
Promover o desenvolvimento sustentável das cadeias produtivas agropecuárias, em benefício da sociedade brasileira

Brasília
MAPA
2024

LUIZ INÁCIO LULA DA SILVA
Presidente da República

CARLOS HENRIQUE BAQUETA FÁVARO
Ministro de Estado da Agricultura e Pecuária

IRAJÁ REZENDE DE LACERDA
Secretário Executivo do Ministério da Agricultura e Pecuária

GUILHERME CAMPOS JÚNIOR
Secretário de Política Agrícola do Ministério da Agricultura e Pecuária

CARLOS GOULART
Secretário de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e Pecuária

LUIS RENATO DE ALCANTARA RUA
Secretário de Comércio e Relações Internacionais do Ministério da Agricultura e Pecuária

PEDRO ALVES CORRÊA NETO
Secretário de Inovação, Desenvolvimento Sustentável, Irrigação e Cooperativismo do Ministério da Agricultura e Pecuária

FERNANDO MAGALHÃES SOARES PINTO
Subsecretário de Orçamento, Planejamento e Administração do Ministério da Agricultura e Pecuária

CAMILO MUSSI
Subsecretário de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e Pecuária

SARA MARTINS
Subsecretaria de Gestão de Pessoas e de Gestão do Conhecimento do Ministério da Agricultura e Pecuária

CARLA MADEIRA GONÇALVES SIMÕES DOS REIS
Chefe de Assessoria Especial de Comunicação Social do Ministério da Agricultura e Pecuária

1ª edição. Ano 2024

Elaboração, distribuição, informações:
Ministério da Agricultura e Pecuária
Secretaria de Defesa Agropecuária
Departamento de Saúde Animal
Coordenação-Geral de Programas Sanitários
Endereço: Esplanada dos Ministérios, Bloco D, 3º andar, sala 318–A
CEP: 70043-900 Brasília – DF
Tel.: (61) 3218-2645
E-mail: pncebt@agro.gov.br

Equipe técnica:
Angelita Silva Dias Galindo
Cristiane de Morais Alves
Diego Leonardo Rodrigues
Patricia Santana Ferreira

Coordenação:
Divisão de Controle da Brucelose e da Tuberculose Animal
Coordenação Geral de Programas Sanitários

Permitida a reprodução sem fins lucrativos, parcial ou total, por qualquer meio, se citada a fonte e o sítio da Internet onde pode ser encontrado o original (www.gov.br/agricultura).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Nacional de Agricultura – BINAGRI

Brasil. Ministério da Agricultura e Pecuária.
Manual do médico veterinário habilitado / Ministério da Agricultura e Pecuária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Saúde Animal. – Brasília : MAPA/SDA, 2024.
39 p. : il.

ISBN: 978-85-7991-252-8

1. Medicina Veterinária. 2. Brucelose Animal. 3. Tuberculose Animal. 4. Sanidade Animal. 5. Diagnóstico Veterinário. 6. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT). I. Secretaria de Defesa Agropecuária. II. Título.

AGRIS L73
4110

Layla Alexandrina Barboza dos Santos CRB1 - 3447

O QUE É UM MÉDICO VETERINÁRIO HABILITADO NO PNCEBT?

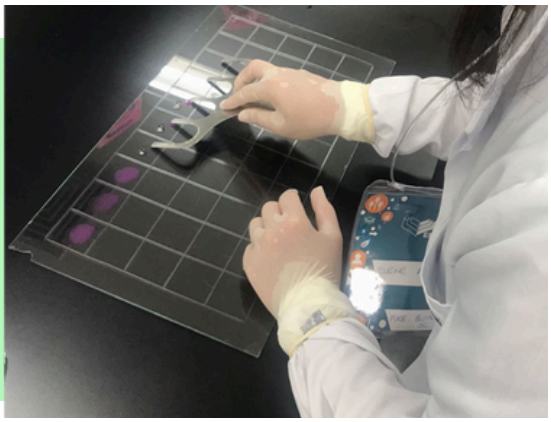
É o **Médico Veterinário** que atua no setor privado, habilitado pelo Ministério da Agricultura e Pecuária, para realizar o diagnóstico da brucelose e da tuberculose animal, sob as diretrizes do PNCEBT e supervisão do Serviço Veterinário Oficial.





Por se tratar de duas doenças de controle oficial, o **Médico Veterinário Habilitado** no PNCEBT é responsável pela notificação de casos inconclusivos e positivos ao Serviço Veterinário Oficial, bem como a marcação de animais positivos para brucelose e tuberculose.

O **Médico Veterinário Habilitado** é responsável pela realização do teste de triagem de brucelose, desde a colheita do material, execução do teste e emissão do atestado. Para o diagnóstico de tuberculose, o MVH é o responsável pela realização do teste de tuberculinização, desde a inoculação, leitura até a emissão do atestado.





O **Médico Veterinário Habilitado** atuará como responsável técnico (RT) nos processos de certificação de estabelecimentos de criação sob as diretrizes do PNCEBT e supervisão do Serviço Veterinário Oficial.
Deverá cumprir as normas do Regulamento Técnico do PNCEBT, fornecer informações relacionadas ao programa e atender às convocações do Serviço Veterinário Oficial.

Sumário

1. **PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE E ERRADICAÇÃO DA BRUCELOSE E DA TUBERCULOSE ANIMAL - PNCEBT**
   1.1 Estratégias do Programa.....07
   1.2 Classificação das Unidades Federativas quanto ao grau de risco.....08
   1.3 Vacinação contra brucelose.....10
   1.4 Certificação de estabelecimento de criação livre de brucelose ou de tuberculose.....12
   1 .5 Eliminação de animais positivos para brucelose e tuberculose.....13
   1.6 Saneamento de estabelecimento de criação com foco de brucelose ou de tuberculose.....14
   1.7 Controle do trânsito de bovinos e bubalinos.....14

2. **MÉDICO VETERINÁRIO HABILITADO**
   2.1 Habilitação e Capacitação de Médicos Veterinários.....16
   2.2 Pré-requisitos para solicitar habilitação.....16

3. **DIAGNÓSTICO NO ÂMBITO DO PNCEBT**
   3.1 Brucelose.....20
   3.2 Tuberculose.....21

4. **PROTOCOLOS PARA DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSE REALIZADO POR MÉDICO VETERINÁRIO HABILITADO**
   4.1 Antígenos 24
   4.2 Teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT).....24
   4.3 Teste do Anel em Leite (TAL).....27

5. **PROTOCOLOS PARA DIAGNÓSTICO ALÉRGICO REALIZADO POR MÉDICO VETERINÁRIO HABILITADO**
   5.1Tuberculinas.....31
   5.2 Teste Cervical Simples (TCS).....31
   5.3 Teste Cervical Comparativo (TCC).....33
   5.4 Teste da Prega Caudal (TPC).....35

6. **LEGISLAÇÃO A SER CONSULTADA**.....37

1. PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE E ERRADICAÇÃO DA BRUCELOSE E DA TUBERCULOSE ANIMAL - PNCEBT

O Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose Animal – PNCEBT foi instituído pela Instrução Normativa n° 2, de 10 de janeiro de 2001 e o Regulamento Técnico do Programa foi revisado através da Instrução Normativa nº 10, de 03/03/2017, que tem como principal objetivo reduzir a prevalência e a incidência dessas doenças, visando a erradicação.

As medidas sanitárias do Programa são aplicadas à população de bovinos e bubalinos.

1.1 Estratégia do Programa

A estratégia de atuação do PNCEBT é baseada na classificação das Unidades Federativas (UF) quanto ao grau de risco para essas doenças e na definição e aplicação de procedimentos de defesa sanitária animal, de acordo com a classificação de risco.

Com base na classificação de risco das UF, poderão ser estabelecidas políticas públicas com a finalidade de diminuir a prevalência dessas doenças nos bovinos e bubalinos.

A estratégia também preconiza um conjunto de medidas sanitárias compulsórias, associada à ação de adesão voluntária. As medidas compulsórias consistem na vacinação de bezerras entre os 3 e 8 meses de idade contra a brucelose e a exigência de exames negativos para trânsito interestadual para fins de reprodução e para participação de animais em eventos pecuários.

O PNCEBT depende do envolvimento de vários segmentos: serviço veterinário oficial, médico veterinário cadastrado para realização da vacinação contra brucelose, médico veterinário habilitado para realizar testes diagnósticos para brucelose e tuberculose, laboratório credenciado para realizar testes diagnóstico para brucelose e setor produtivo, sendo que o sucesso do programa, bem como a segurança alimentar, depende diretamente do compromisso e conscientização de todos os atores envolvidos.

1.2 Classificação das Unidades Federativas quanto ao grau de risco

O grau de risco das UF para brucelose e tuberculose animal se baseia em classes de A a E, determinadas pelas prevalências de brucelose e tuberculose estimadas por estudos padronizados pelo MAPA e em níveis de 0 a 3, levando em consideração a execução das ações de defesa sanitária animal propostas em plano de ação. Este plano deve ser apresentado pelo Serviço Veterinário Estadual (SVE) e aprovado pelo Departamento de Saúde Animal (DSA).

Sendo o Brasil um país de dimensões continentais, existem diferenças de prevalências das doenças (brucelose/tuberculose) entre e dentro das UF, diferenças socioeconômicas, de extensão territorial, de rebanhos, de características de produção e de índices vacinais. Estas particularidades acarretam dificuldades no estabelecimento de uma estratégia única que seja adequada à realidade de todas as UF. Por essa razão, cada UF deverá adotar medidas próprias para o controle e erradicação destas doenças.

Considerando o grau de risco para brucelose animal, as UF foram classificadas pelo DSA conforme a prevalência de focos em classes: A (< 2), B (> 2 < 5), C (> 5 < 10), D (> 10), E (desconhecida). E quanto ao grau de risco para tuberculose animal, considerando também a prevalência de focos, as UF foram classificadas em: A (< 2), B (> 2 < 3), C (> 3 < 6), D (> 6), E (desconhecida).

Nas figuras 1 e 2 a seguir são apresentadas as prevalências de foco de brucelose e tuberculose das Unidades da Federação.

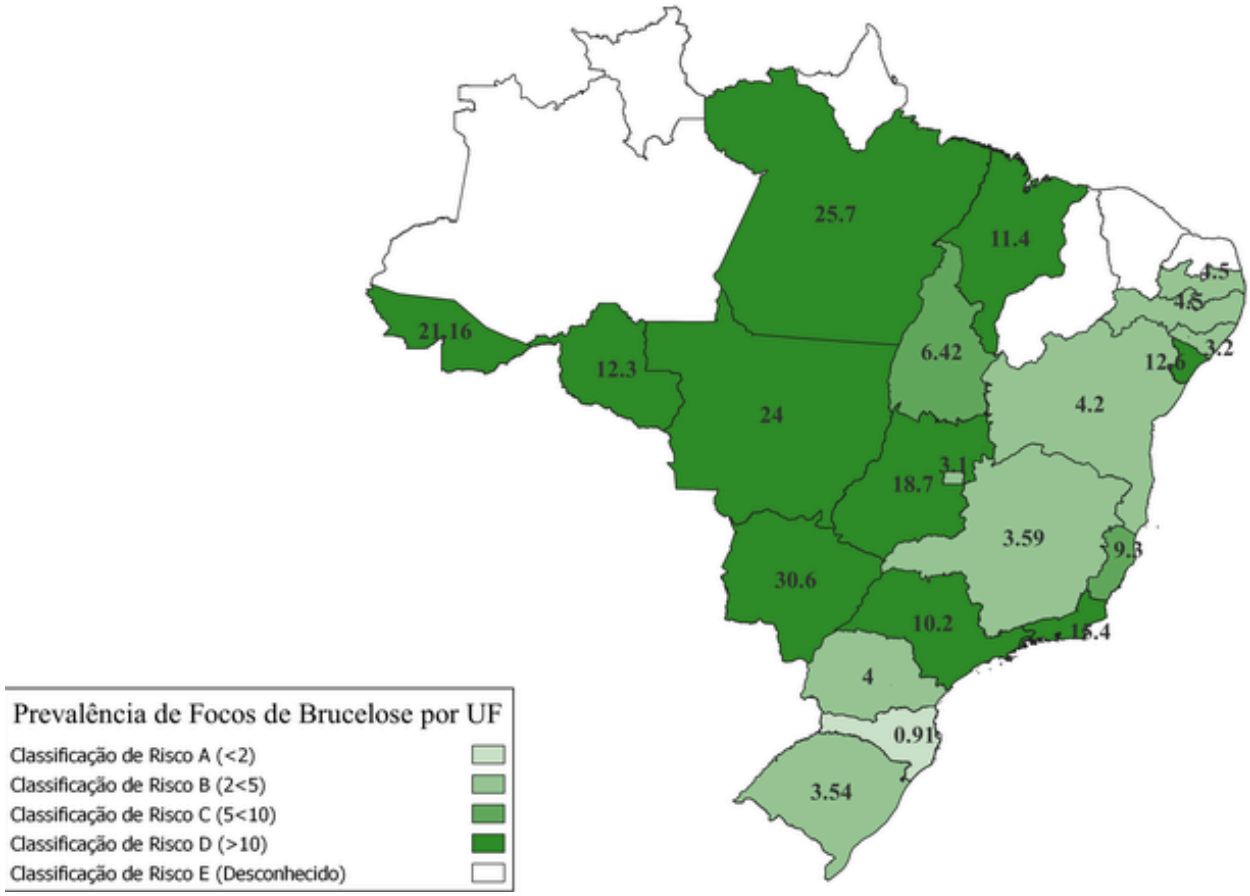


Figura 1. Prevalência de focos e classificação de risco para brucelose nas Unidades da Federação

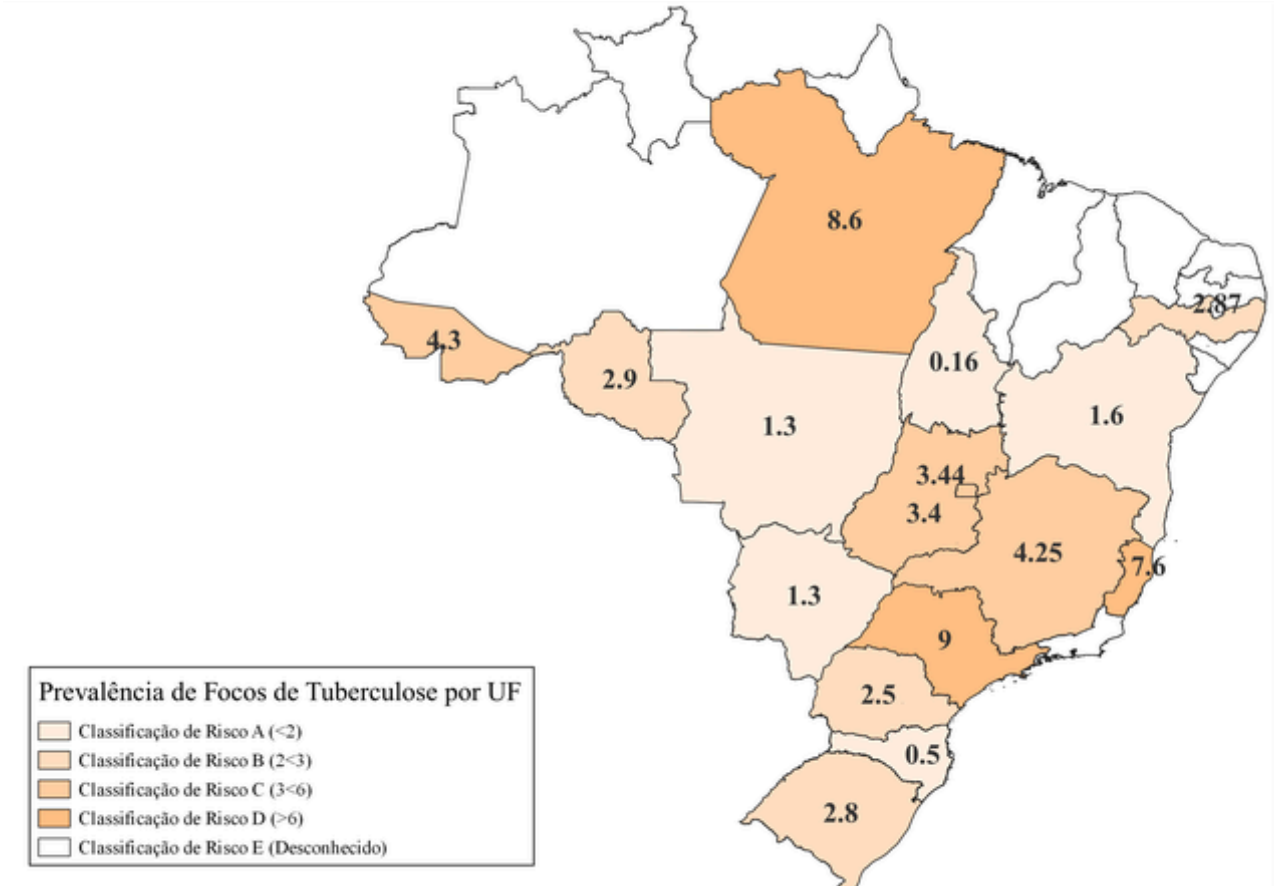


Figura 2. Prevalência de focos e classificação de risco para tuberculose nas Unidades da Federação

1.3 Vacinação contra brucelose

É obrigatória a vacinação de todas as fêmeas bovinas e bubalinas, de três a oito meses de idade, contra a brucelose. As vacinas utilizadas no Brasil são a B19 e RB51, ambas recomendadas pela Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA).

A vacina amostra B19 pode ser utilizada em fêmeas bovinas e bubalinas de três a oito meses de idade. Já a vacina amostra RB51 pode ser utilizada a partir de 3 meses de idade, somente na espécie bovina.

A vacina B19, por ser uma amostra lisa *de Brucella abortus*, induz a formação de anticorpos específicos e pode interferir no diagnóstico sorológico da brucelose. A persistência desses anticorpos está relacionada com a idade de vacinação. Nas fêmeas vacinadas com idade superior a oito meses, há grande probabilidade de produção de anticorpos que perdurem e interfiram no diagnóstico da doença após os 24 meses de idade.

A vacina RB51 possui características de proteção semelhantes às da B19, porém não induz a formação de anticorpos específicos e não interfere no diagnóstico sorológico da doença.

As vacinas B19 e RB51 são vivas atenuadas e patogênicas para o homem, por isso, devem ser manuseadas somente por profissionais treinados, sendo necessário o uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI) pois põe em risco médicos veterinários e seus vacinadores.

O Médico Veterinário Habilitado (MVH) não está autorizado a emitir receituário para compra de vacina contra brucelose nem efetuar a vacinação. Para isto, o profissional deverá solicitar o seu cadastramento para vacinação contra brucelose. Assim, o médico veterinário da iniciativa privada poderá ser cadastrado para vacinação contra brucelose e/ou habilitado para realização de testes de diagnóstico de brucelose e tuberculose, desde que cumpram os pré-requisitos necessários para cada atividade.

Cadastramento de Médicos Veterinários para vacinação contra brucelose

Caberá ao médico veterinário cadastrado, a execução da vacinação contra brucelose de acordo com o Regulamento Técnico do PNCEBT e a emissão do atestado de vacinação.

O cadastramento de médico veterinário para vacinação nos estados do AC, AL, AM, AP, CE, ES, MA, PB, RR deve ser realizado no portal Gov.br através do link: https://www.gov.br/pt-br/servicos/obter-cadastro-de-medico-veterinario-para-vacinacao-contra-brucelose.

Os médicos veterinários das demais Unidades da Federação que queiram se cadastrar para realizar a vacinação contra brucelose deverão procurar o Serviço Veterinário Estadual (SVE).

A lista da página dos SVE das UF está disponível no link: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pncebt/paginas-dos-servicos-veterinarios-estaduais.pdf

Documentos necessários:

- Certidão negativa do CRMV da UF onde deseja atuar;
- Comprovante de endereço;
- Foto e eventuais documentos solicitados pelos Serviços Veterinários Estaduais de cada Estado.

Atenção!

Somente Médicos Veterinários cadastrados no SVE estão autorizado a efetuar a vacinação contra brucelose.



1.4 Certificação de estabelecimento de criação livre de brucelose ou de tuberculose

A certificação de estabelecimento de criação livre de brucelose ou de tuberculose é de adesão voluntária e às custas do proprietário dos animais, devendo ser formalmente solicitada à unidade local do SVE, na qual o estabelecimento de criação encontra-se cadastrado.

Para obter a certificação de estabelecimento de criação livre, é necessária a realização de dois testes de rebanho negativos consecutivos para brucelose ou para tuberculose com intervalo de seis a 12 meses.

Os testes de brucelose serão realizados por MVH ou por laboratório credenciado pelo MAPA.

O 2° teste para a certificação de brucelose deve ser realizada apenas em laboratório credenciado pelo MAPA.

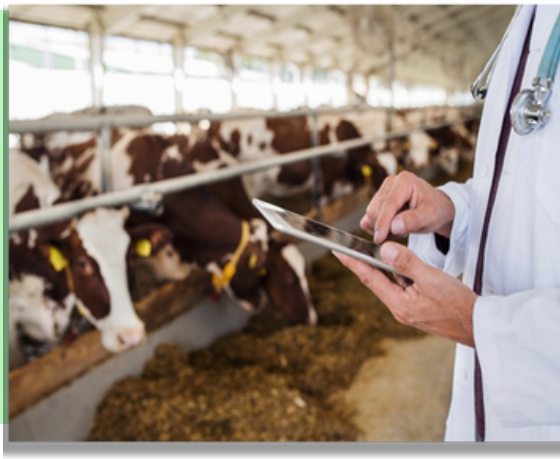
Os testes de tuberculose serão realizados por MVH, que deverá informar à unidade local do SVE a data de colheita de sangue e da realização do teste de tuberculinização para fins de certificação do estabelecimento de criação, com antecedência mínima de 7 dias.

A manutenção do certificado fica condicionada à realização e apresentação ao SVE de testes de rebanho negativos com intervalos máximos de 12 meses.

O certificado de estabelecimento de criação livre de brucelose ou de tuberculose será emitido pelo SVE e terá validade nacional.

Importante!

O MVH no PNCEBT atuará como responsável técnico (RT) nos processos de certificação de propriedades livres para brucelose e tuberculose sob as diretrizes do PNCEBT e supervisão do SVE.



1.5 Eliminação de animais positivos para brucelose e tuberculose

É de responsabilidade do MVH, responsável pelo exame, a marcação dos animais positivos para brucelose e tuberculose, utilizando ferro candente ou nitrogênio líquido, no lado direito da cara com um “P” contido num círculo de oito centímetros de diâmetro, conforme figura abaixo.

Também é de responsabilidade do médico veterinário habilitado que realizou o diagnóstico notificar os resultados inconclusivos e positivos ao serviço veterinário oficial em até um dia útil.

Os animais positivos deverão ser isolados do rebanho, afastados da produção leiteira e abatidos no prazo máximo de trinta dias após o diagnóstico, em estabelecimento sob serviço de inspeção oficial, ou na impossibilidade de abate sanitário, os animais devem ser submetidos à eutanásia no estabelecimento de criação, conforme normatizado pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária.

Atenção!

A notificação dos animais positivos/ inconclusivos e a marcação do animal **POSITIVO** é obrigação do MVH



1.6 Saneamento de estabelecimento de criação com foco de brucelose ou tuberculose

O saneamento será obrigatório com base na classificação das UF em relação ao grau de risco para brucelose e para tuberculose, e será realizado pelo MVH sob a supervisão do SVE.

O MVH deverá informar as datas de realização dos testes à unidade local do SVE, com antecedência mínima de sete dias, para fins de fiscalização.

O saneamento para brucelose consiste na realização de um teste de rebanho negativo, com a eliminação de todos os animais reagentes positivos, conforme critérios estabelecidos: fêmeas com idade igual ou superior a vinte e quatro meses, se vacinadas com a B19; fêmeas com idade igual ou superior a oito meses, se vacinadas com a RB51 ou não vacinadas; e machos com idade igual ou superior a oito meses, destinados à reprodução.

O saneamento para tuberculose consiste na realização de teste de rebanho negativo, em todos os animais acima de 6 semanas, nos estabelecimentos de criação especializados em pecuária leiteira ou sem especialização (rebanho misto). Em estabelecimentos de criação especializados em pecuária de corte, os testes serão realizados em fêmeas acima de 24 meses e machos reprodutores. Em ambos os casos deverá ser realizada a eliminação dos positivos.

1.7 Controle do trânsito de bovinos e bubalinos

A emissão da Guia de Trânsito Animal - GTA para trânsito de bovinos ou bubalinos, qualquer que seja a finalidade, fica condicionada à comprovação de vacinação obrigatória contra a brucelose no estabelecimento de criação de origem dos animais. No caso do trânsito de fêmeas em idade de vacinação contra brucelose, estas deverão estar imunizadas.

Para fins de trânsito interestadual de bovinos e bubalinos destinados à reprodução e aglomeração é obrigatória a apresentação de resultados negativos aos testes de diagnóstico para brucelose e tuberculose.

2. MÉDICO VETERINÁRIO HABILITADO



2.1 Habilitação e Capacitação de Médicos Veterinários

O PNCEBT envolve muitas ações sanitárias profiláticas e de diagnóstico a campo. Assim sendo, torna-se necessário habilitar médicos veterinários do setor privado para atuarem junto ao PNCEBT, sob supervisão do MAPA e dos Serviço Veterinário Estaduais/Distrital das UFs.

Sendo assim, para executar as atividades de diagnóstico a campo e realização de certificação de estabelecimentos de criação livres, o MAPA habilita médicos veterinários da iniciativa privada.

2.2 Pré-requisitos para solicitar habilitação

1. Estar inscrito no Conselho Regional de Medicina Veterinária (CRMV) da UF onde irá solicitar habilitação e não ter vínculo com o serviço oficial de defesa sanitária animal;
2. Ser aprovado no Curso de Treinamento em Métodos de Diagnóstico e Controle da Brucelose e Tuberculose Animal, ministrado por instituição credenciada pelo Departamento de Saúde Animal- DSA/MAPA.
3. Dispor de infraestrutura e materiais adequados para a execução dos testes de diagnóstico para brucelose e tuberculose, conforme previsto em normativa vigente.

TESTE DO ANTÍGENO ACIDIFICADO TAMPONADO (AAT)

- ambiente climatizado (temperatura de 22ºC ± 4ºC aferida por termômetro) com ponto de água;
- geladeira com freezer, ou geladeira e freezer;
- micropipetador automático de 30 µL ou volumes variados;
- fonte de iluminação indireta;
- cronômetro;

- placa de vidro para soroaglutinação;
- material para colheita de sangue;
- ferros para marcação de animais reagentes positivos;
- formulários para emissão de atestados ou acesso a sistema informatizado da UF de atuação.

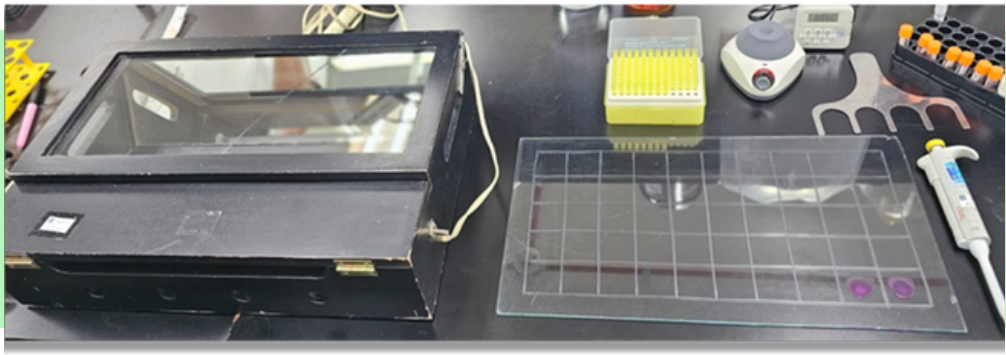
TESTE DO ANEL DO LEITE (opcional):

- tubos de 10mm X 75mm ou 10mm X 100mm;
- grade para tubos;
- pipetas de 1mL;
- estufa ou banho-maria a 37ºC (trinta e sete graus Celsius).

TUBERCULINIZAÇÃO:

- pelo menos duas seringas multidose próprias para tuberculinização de bovídeos, calibradas para 0,1 mL e equipadas com agulhas apropriadas para inoculação intradérmica;
- Agulhas para pistola de tuberculinização (calibre 22G X 3 a 4 mm);
- cutímetro de mola com pressão constante específico para teste de tuberculinização de bovídeos com escala em décimos de milímetro (0,1 mm);
- aparelho para tricotomia;
- ferro para marcação de animais reagentes positivos;
- formulários para emissão de atestados.

Materiais para realização do teste de AAT



O médico veterinário que deseja enviar amostras para diagnóstico de brucelose exclusivamente a laboratórios credenciados pode ser dispensado das exigências de instalações e equipamentos para o teste de brucelose, exceto pelo material necessário para a coleta de sangue e para a marcação de animais que apresentarem resultado positivo.

O profissional que deseja se habilitar em mais de uma UF, deverá requerer uma habilitação por UF.

Após cumpridos todos os requisitos listados nos itens 1, 2 e 3, o médico veterinário solicitará a habilitação no portal Gov.br através do link: **https://www.gov.br/pt-br/servicos/habilitar-se-para-atuacao-no-programa-nacional-de-controle-e-erradicacao-da-brucelose-e-da-tuberculose-animal-pncebt**

Para ter acesso ao instrutivo do médico veterinário para solicitação de habilitação no PNCEBT, bem como a lista de Instituições Credenciadas pelo MAPA para ministrar os Cursos de Treinamento em Métodos de Diagnóstico e Controle da Brucelose e da Tuberculose Animal acessar o link: **https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pncebt/habilitacao-de-medico-veterinario-no-pncebt**

Material para realização do teste de tuberculinização



3. DIAGNÓSTICO NO ÂMBITO DO PNCEBT

3.1 Brucelose

O diagnóstico da brucelose bovina e bubalina é realizado por meio de exames sorológicos de triagem e confirmatórios. Os testes de triagem são realizados por **MVH pelo MAPA** e os confirmatórios por laboratório da Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária (oficiais e credenciados).

Os testes devem ser realizados em:

- Fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses, quando vacinadas com a B19;
- Fêmeas não vacinadas ou vacinadas com a RB51, devem ser testadas com idade igual ou superior a 8 meses de idade;
- Machos com idade igual ou superior a 8 meses de idade, destinados à reprodução.
- Os animais deverão ser identificados individualmente, por meio de brinco, botton, ou marcas permanentes como tatuagem, marca a fogo, entre outros.

Sobre os testes de diagnóstico de brucelose:

- O teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) é muito sensível e de fácil execução e é o teste de triagem realizado por MVH ou por laboratórios oficiais ou credenciados;
- Os animais que reagirem ao teste de triagem poderão ser submetidos a um teste confirmatório, o 2-Mercaptoetanol (2-ME), que é mais específico, sendo executado por laboratórios oficiais ou credenciados;
- O teste de Polarização Fluorescente (FPA) será utilizado como teste único ou como teste confirmatório em animais reagentes ao teste do AAT ou inconclusivos ao teste do 2-ME, executado por laboratórios oficiais ou credenciados;

- O teste de Fixação de Complemento (FC) será utilizado como teste confirmatório em animais reagentes ao teste do AAT ou que apresentaram resultado inconclusivo ao teste do 2-ME ou inconclusivo no FPA, sendo também o teste de escolha para trânsito internacional de animais.
- O teste do anel em leite (TAL) poderá ser utilizado para monitoramento da condição sanitária de propriedades livres ou como ferramenta de diagnóstico em sistemas de vigilância epidemiológica; pode ser executado por médicos veterinários habilitados, por laboratórios credenciados ou por laboratórios oficiais credenciados.

3.2 Tuberculose

Para o diagnóstico da tuberculose bovina e bubalina são utilizados testes alérgicos de tuberculinização intradérmica, devendo ser realizado por MVH pelo MAPA.

A tuberculinização deve ser realizada em machos e fêmeas com idade igual ou superior a seis semanas. Os animais deverão ser identificados individualm ente, por meio de brinco, botton, ou marcas permanentes como tatuagem, marca a fogo, entre outros.

Os testes de rotina para o diagnóstico de tuberculose são o teste cervical simples (TCS) e o teste da prega caudal (TPC).

O teste cervical comparativo (TCC) é a prova confirmatória para animais reagentes ao TCS e TPC, todavia, também pode ser empregado como única prova diagnóstica em rebanhos com histórico de reações inespecíficas.

Diagnóstico da Brucelose

Teste AAT	Teste 2-ME	Teste FPA	Teste FC
Teste de rotina	Teste confirmatório para animais reagentes ao AAT	Teste único ou como teste confirmatório em animais reagentes ao AAT ou inconclusivos ao 2-ME	Teste confirmatório para animais reagentes ao AAT ou inconclusivos ao 2-ME ou inconclusivos no FPA
			Teste de referência para trânsito internacional

Diagnóstico da Tuberculose

Teste Cervical Simples (TCS)	Teste Cervical Comparativo (TCC)	Teste de Prega Caudal (TPC)
Teste de rotina	Teste confirmatório	Teste de rotina na pecuária de corte



- **Proibido retestar** animal com resultado **POSITIVO** em teste confirmatório.
- Animal com resultado **POSITIVO** em qualquer teste confirmatório deve ser eliminado, obrigatoriamente.
- Animal com **dois resultados inconclusivos** em teste confirmatório é considerado **POSITIVO** e também deve ser eliminado.

4. PROTOCOLOS PARA DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSE REALIZADO POR MÉDICO VETERINÁRIO HABILITADO

4.1 Antígenos

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

4.2 Teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT)

Precauções na execução do teste

1. O antígeno, quando não estiver em uso, precisa permanecer sempre entre 2ºC e 8ºC. Em caso de sua utilização para realizar um pequeno número de testes, dividi-lo em alíquotas e retirar da geladeira apenas a quantidade a ser utilizada a cada dia, evitando, assim, a perda de sensibilidade pelo constante resfriamento/aquecimento do antígeno.
2. A temperatura de execução desejável será em torno de 22ºC ± 4ºC, devendo-se evitar temperaturas muito abaixo ou muito acima desse valor.
3. As placas, os misturadores e as pipetas devem ser limpos com água corrente logo após o uso. Imergi-los em uma solução de detergente neutro por duas horas ou, de preferência, durante a noite. Em seguida, lavá-los em água corrente. Secar em estufa ou à temperatura ambiente.
4. Antes de utilizar os misturadores nos próximos soros a serem testados, limpá-los e enxugá-los em papel toalha.
5. Soros excessivamente hemolisados devem ser desprezados, porque podem apresentar resultados falso-positivos.
6. Em todos os testes devem ser simultaneamente testados soros controle positivo e negativo.

Técnica

1. Equilibrar os soros e o antígeno à temperatura ambiente, por, pelo menos, 30 minutos. Caso os soros estejam congelados, o período de equilíbrio à temperatura ambiente deve ser maior. Homogeneizar os soros antes de realizar a prova.
2. Preencher os protocolos de prova, identificando a localização de cada soro.
3. Depositar 30 µL de soro, com micropipetador, sobre a placa de vidro, encostando nela a ponta da pipeta em ângulo de 45°.
4. Agitar suavemente o antígeno e colocar uma gota (30 µL) ao lado do soro, sem ser nele misturado.
5. Misturar, por meio de misturador simples ou múltiplo, o soro e o antígeno com movimentos circulares, de modo a obter um círculo aproximado de 2 cm.
6. Agitar a placa com movimentos oscilatórios, numa frequência de, aproximadamente, 30 movimentos por minuto, de modo a permitir que a mistura soro-antígeno flua lentamente dentro de cada círculo; a placa deve ser agitada continuamente por 4 minutos.
7. Colocar a placa na caixa de leitura com luz indireta e realizar a leitura.
8. Anotar os resultados.
9. Desconsiderar as reações de aglutinação que ocorrerem após os 4 minutos.

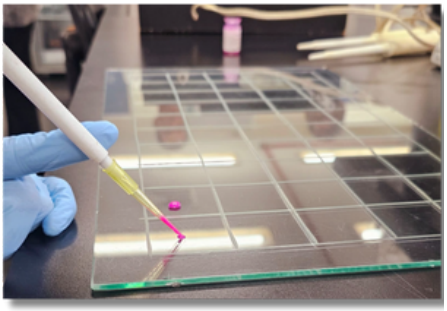
Interpretação dos resultados

- Presença de grumos – **REAGENTE**
- Ausência de grumos – **NÃO REAGENTE**

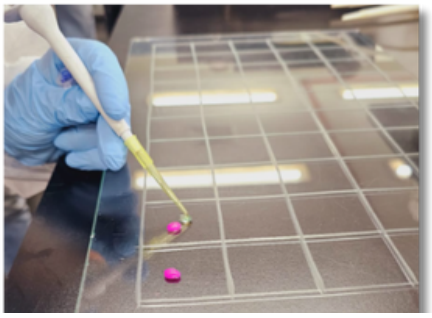
TESTE ANTÍGENO ACIDIFICADO TAMPONADO



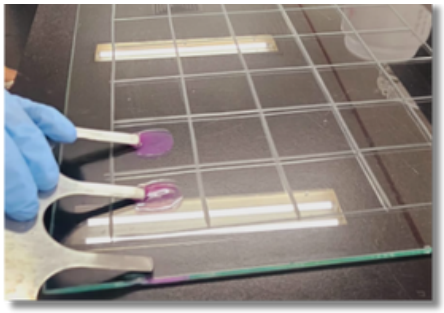
Equilibrar os soros e o antígeno à temperatura ambiente (22°C+ 4°C), e homogeneizar antes da prova



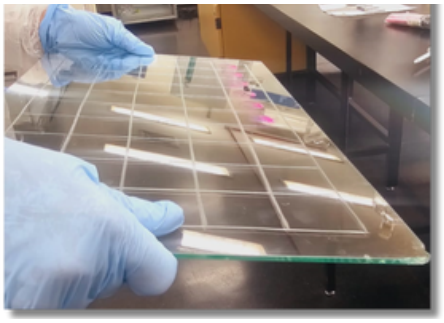
Dispensar 30 µL de soro sobre a placa de vidro, encostando nela a ponta da pipeta em ângulo de 45º



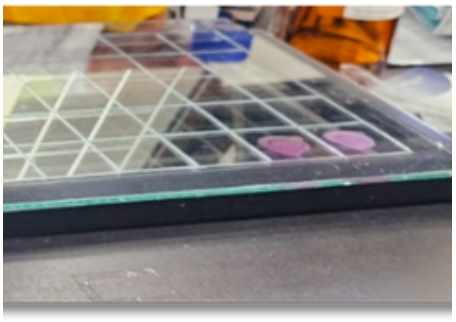
Agitar suavemente o antígeno e colocar 30 µL ao lado do soro



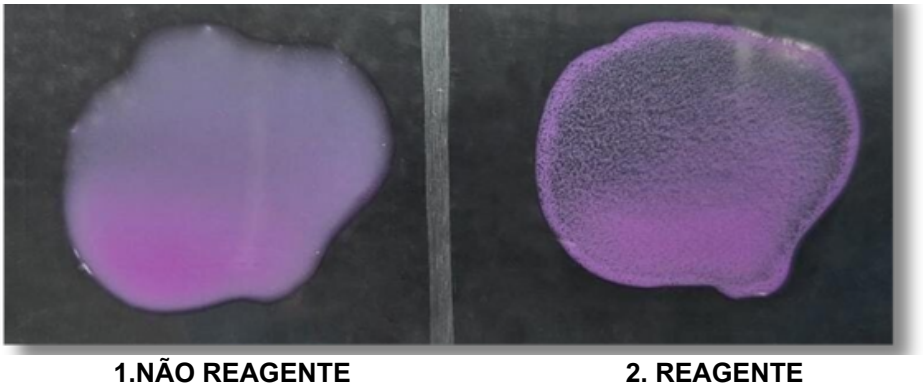
Misturar soro e antígeno com movimentos circulares, de modo a obter um círculo de 2 cm



Agitar a placa em movimentos oscilatórios por 4 minutos



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



1.NÃO REAGENTE **2. REAGENTE**

4.3 Teste do Anel em Leite (TAL)

Precauções na execução do teste

1. As amostras para realizar o teste devem ser colhidas de mistura de leite em latão, no máximo de três latões por amostra, ou em tanque, sendo no máximo um tanque por amostra. Antes de colher a amostra, homogeneizar suavemente o leite. Colher o leite utilizando como conservante o formol a 1%, ou o cloreto de mercúrio a 2%, na proporção de 1 mL de conservante para cada 10 mL de leite. O leite deve ser refrigerado e enviado ao laboratório. As amostras podem ser mantidas entre 2ºC e 8ºC por até duas semanas.
2. As amostras de leite devem ser mantidas entre 2ºC e 8ºC por, pelo menos, 24 horas antes da realização do TAL.
3. Uma amostragem incorreta poderá levar a conteúdo com excesso ou com insuficiência de creme, o que irá interferir na realização do TAL.
4. A agitação excessiva da amostra quebra os glóbulos de gordura e interfere na formação da camada de creme na superfície do leite.
5. O aquecimento do leite acima de 45ºC diminui a quantidade de anticorpos anti-Brucella sp presentes na amostra.
6. O congelamento ou a pasteurização da amostra podem ocasionar resultados falso-negativos, portanto, tais amostras não devem ser utilizadas no TAL.
7. Leite ácido, leite recentemente colhido, leite contendo colostro, leite de vacas no período de secagem e leite de vacas com mamite podem apresentar resultados falso-positivos.
8. Em todos os testes devem ser simultaneamente testadas amostras de leite controle positivo e negativo.

9. O tamanho do rebanho pode influenciar no resultado do teste quando o leite é colhido de latões. Para tanto, e em função do tamanho do rebanho, deve-se aumentar a quantidade de leite a ser utilizada no TAL, mantendo-se constante o volume do antígeno (30 µL). Para rebanhos com até 150 vacas em lactação, utiliza-se 1 mL de leite. Para rebanhos com 151 a 450 vacas em lactação, utilizam-se 2 mL de leite. Nos rebanhos com 451 a 700 vacas em lactação, utilizam-se 3 mL de leite. Rebanhos com mais de 700 vacas em lactação devem ser divididos em lotes menores para a realização do TAL 9. Em todos os testes devem ser simultaneamente testadas amostras de leite controle positivo e negativo.

Técnica

1. Equilibrar as amostras de leite e o antígeno à temperatura ambiente por, pelo menos, 60 minutos.
2. Misturar bem as amostras de leite.
3. Colocar 1 mL de leite em tubos 10 mm x 100 mm. A coluna de leite deve ter, no mínimo, 2 cm. Obs.: Em função do tamanho do rebanho, a quantidade de leite a ser utilizada no teste (empregando-se a mesma quantidade de antígeno, 30 µL) deve ser aumentada para 2 mL ou 3 mL, conforme as recomendações do item 8 das Precauções na execução do teste.
4. Adicionar ao leite uma gota (30 µL) de antígeno.
5. Tampar o tubo e misturar por inversão várias vezes.
6. Deixar em repouso por 1 minuto e verificar se a mistura está homogênea. Não deve sobrar antígeno nas paredes do tubo.
7. Incubar por 1 hora a 37ºC.
8. Proceder à leitura.
9. Anotar os resultados.

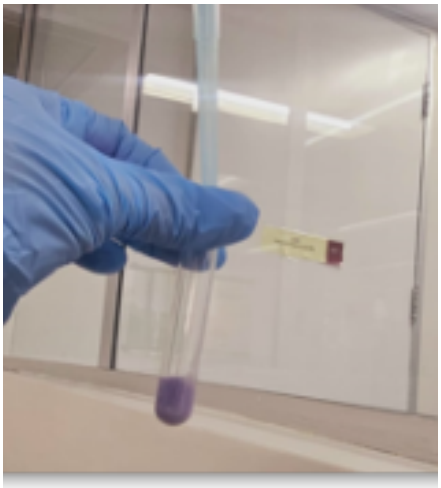
Interpretação dos resultados

- Anel de creme azul e coluna de leite branca ou azulada – REAGENTE
- Anel de creme branco e coluna de leite azul - NÃO REAGENTE

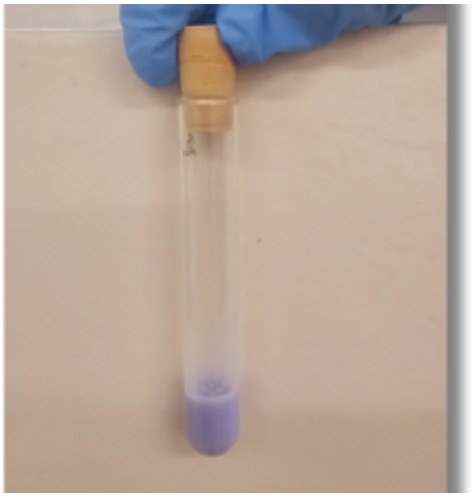
TESTE DO ANEL DO LEITE



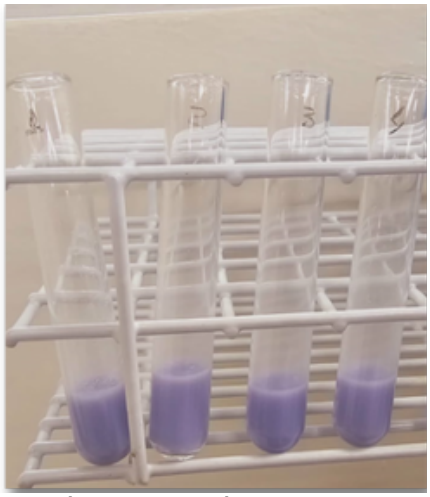
Pipetar 1 mL de leite e colocar em tubos 10 mm x 100 mm



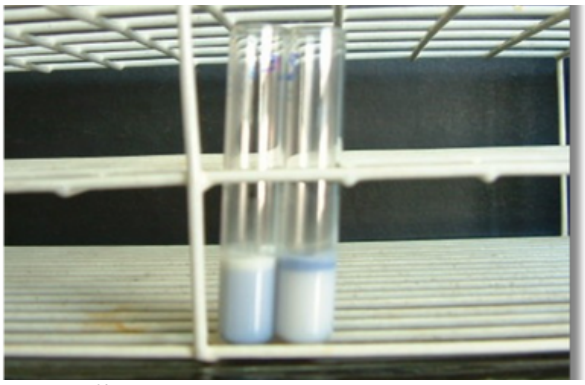
Adicionar ao leite uma gota (30 µL) de antígeno



Tampar o tubo e misturar por inversão várias vezes



Incubar por 1 hora a 37ºC



1. NÃO REAGENTE
2. REAGENTE

5. PROTOCOLOS PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSE REALIZADO POR MÉDICO VETERINÁRIO HABILITADO

5.1 Tuberculinas

Deverão ser utilizadas somente as tuberculinas PPD (Derivado Protéico Purificado) bovina e aviária, produzidas segundo as normas do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), sendo as partidas controladas e aprovadas pelo MAPA.

As tuberculinas deverão ser transportadas e conservadas em temperatura de, no mínimo, 2ºC e de, no máximo, 8ºC, e protegidas da luz solar direta. O conteúdo dos frascos, após sua abertura, deverá ser usado no mesmo dia.

5.2 Teste Cervical Simples (TCS)

Realização do teste

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

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

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

Leitura e interpretação dos resultados

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

O aumento da espessura da dobra da pele (ΔB) será assim calculado: da medida da dobra da pele 72 horas após a inoculação (B72), subtrai-se a medida da dobra da pele tomada no dia da inoculação para a tuberculina PPD bovina (B0).

O resultado será anotado no respectivo campo do formulário para exame de brucelose e tuberculose (ΔB= B72–B0). Os resultados obtidos serão interpretados de acordo com os critérios definidos pelo Regulamento Técnico do PNCEBT (Instrução Normativa SDA nº 10, de 3 de março de 2017).

ΔB(mm)	Características da reação			Interpretação
	Sensibilidade	Consistência	Outras Alterações	
0,0 a 1,9	–	–	–	negativo
2,0 a 3,9	pouca dor	endurecida	delimitada	inconclusivo
2,0 a 3,9	muita dor	macia	Exsudato, necrose	positivo
≥ 4,0	–	–	–	positivo

Tabela 1 - Interpretação do teste cervical simples em bovinos

Lembre-se!

O TCS é um teste de triagem.
Para confirmação do diagnóstico, realize o TCC.



5.3 Teste Cervical Comparativo (TCC)

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

Realização do teste

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

A inoculação de tuberculina PPD aviária será feita na região cervical, na junção do terço anterior e do terço médio e a uma distância igual das bordas superior e inferior do pescoço, ou escapular, à frente da espinha da escápula, e a 20 cm da cernelha.

A tuberculina PPD bovina será inoculada na região cervical, na junção do terço médio e terço posterior e a uma distância igual das bordas superior e inferior do pescoço, ou escapular, atrás da espinha da escápula, e a 20 cm da cernelha, havendo uma distância mínima de 15 a 20 cm entre as duas inoculações.

Recomenda-se que a inoculação seja efetuada de um mesmo lado de todos os animais do estabelecimento de criação. Os locais serão demarcados por tricotomia, devendo-se evitar áreas com lesão ou nódulos de parasitos.

A espessura da dobra da pele será determinada com o auxílio de cutímetro antes da inoculação. As medidas da dobra da pele do local da inoculação da tuberculina PPD aviária e da tuberculina PPD bovina serão anotadas nos respectivos campos no formulário para exame de brucelose e tuberculose.

Leitura e interpretação dos resultados

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

O aumento da espessura da dobra da pele será assim calculado: da medida da dobra da pele 72 horas após a inoculação, subtrai-se a medida da dobra da pele tomada no dia da inoculação para a tuberculina PPD aviária (ΔA) e a tuberculina PPD bovina (ΔB). Os resultados serão anotados nos respectivos campos no formulário para exame de brucelose e tuberculose.

A diferença de aumento da dobra da pele provocado pela inoculação da tuberculina PPD bovina (ΔB) e da tuberculina PPD aviária (ΔA) será calculada subtraindo-se ΔA de ΔB. Anota-se o valor no campo respectivo do formulário para exame de brucelose e tuberculose. Os resultados das diferenças (ΔB – ΔA) serão interpretados de acordo com os critérios definidos pelo Regulamento Técnico do PNCEBT (Instrução Normativa SDA nº 10, de 3 de março de 2017).

	ΔB – ΔA(mm)	Interpretação
ΔB < 2,0	–	negativo
ΔB < ΔA	< 0	negativo
ΔB ≥ ΔA	0,0 a 1,9	negativo
ΔB > ΔA	2,0 a 3,9	inconclusivo
ΔB > ΔA	≥ 4,0	positivo

Tabela 2 - Interpretação do teste cervical comparativo em bovinos

5.4 Teste da Prega Caudal (TPC)

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

Realização do teste

A tuberculina PPD bovina será inoculada por via intradérmica na dosagem de 0,1 mL, 6 cm a 10 cm da base da cauda, na junção da pele pilosa e da pele glabra. Antes da inoculação, o local deve estar limpo. A formação de uma pápula no local indica que a inoculação foi correta.

A inoculação da tuberculina PPD poderá ser feita na prega caudal de quaisquer dos lados; recomenda-se, todavia, que, para um determinado rebanho, seja utilizado o mesmo lado para inoculação.

Leitura e interpretação dos resultados

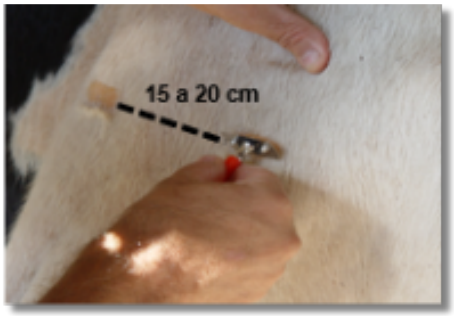
Após 72 ± 6 horas da inoculação será realizada a leitura do teste, comparando-se, por avaliação visual e palpação, a prega inoculada com a prega do lado oposto. Qualquer aumento de espessura na prega inoculada classificará o animal como REAGENTE.

Alerta!

TPC pode ser utilizado como teste de rotina exclusivamente na pecuária de corte, e não será aceito para fins de movimentação e emissão de Guia de Trânsito Animal-GTA



TESTE DE TUBERCULINIZAÇÃO



Tricotomia para demarcação do local da inoculação das tuberculinas aviária e bovina para TCC



Medida da dobra da pele com cutímetro antes da inoculação



Inoculação da tuberculina intra-dérmica transversalmente à pele



Formação de pápula no local indica a inoculação correta



Leitura do teste com cutímetro



Reação inespecífica: reação Tb aviária > que Tb bovina

TESTE DA PREGA CAUDAL (TPC)



Inoculação da tuberculina intra-dérmica na prega caudal no TPC



Leitura do teste da prega caudal (TPC)

6.LEGISLAÇÃO A SER CONSULTADA

INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA Nº 10, DE 3 DE MARÇO DE 2017: estabelece 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.

INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA Nº 30, DE 7 DE JUNHO DE 2006: estabelece as normas de habilitação de médicos veterinários que atuam no setor privado, para fins de execução de atividades previstas no Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal – PNCEBT.

SÍTIO ELETRÔNICO DO MAPA/PNCEBT:
https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pncebt

LEGISLAÇÃO ESTADUAL: buscar junto ao Serviço Veterinário Estadual da UF de atuação do MVH

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA
E PECUÁRIA

GOVERNO FEDERAL

BRASIL

UNIÃO E RECONSTRUÇÃO