

Paratuberculose Bovina em Propriedades Leiteiras da Região Norte e Noroeste Fluminense: Atitudes e Percepções de Agricultores e Screening de Animais Infectados

*Giliane de Souza Cabral*¹

*Letícia Rabello Bittencourt*¹

*Fabício Moreira Almeida*¹

*Luciano Grillo Almeida*²

*Ítalo dos Santos Coutinho*²

*Ana Bárbara Freitas Rodrigues*²

*Elena Lassounskaia*¹

¹ *Laboratório de Biologia do Reconhecer do Centro de Biociências e Biotecnologia;*

² *Laboratório de Sanidade Animal do Centro de Ciências e Tecnologia Agropecuária, da Universidade Estadual do Norte Fluminense*

Resumo

As infecções micobacterianas do gado, como a Paratuberculose (PTB), uma enterite crônica dos ruminantes de desenvolvimento lento e difícil para diagnóstico e tratamento, causam perdas econômicas significativas, prejudicando um progresso sócio-econômico do estado. Os rebanhos dos pequenos produtores estão em maior risco da doença, devido ao baixo nível de percepção do problema pelos agricultores e grande comercialização de animais entre propriedades (trocas, vendas e empréstimos de animais). Entretanto, a prevalência da PTB nos rebanhos da região é desconhecida devido a carência no diagnóstico da infecção. Este projeto visa dar continuidade ao trabalho dos pesquisadores da UENF [colaboração do LBR/CBB e LSA/CCTA], direcionado ao melhoramento do controle das infecções micobacterianas na região, incluindo a PTB e a tuberculose bovina, através dos programas educativos para agricultores e melhoramento

do diagnóstico. Em estudos anteriores, foi desenvolvido novo método do diagnóstico da PTB em fezes de bovinos, e foi confirmada a presença de animais infectados nas fazendas de Penedo, RJ. Neste projeto iniciamos um programa integrado para a prevenção e controle da PTB nas fazendas do município de São José de Ubá, Italva e Lagoa de Cima no município de Campos dos Goytacazes, reforçando políticas públicas destes municípios. Além das ações educacionais direcionadas ao esclarecimento dos fatores de risco, práticas de prevenção e sintomas da doença, nossa equipe está realizando coleta das amostras de fezes e soros dos animais, bem como o diagnóstico laboratorial de infecção através de métodos imunoquímicos, com o intuito de elaborar planos individualizados de prevenção da doença nas fazendas contaminadas.

Palavras-chave: Saúde animal; Agropecuária, Educação popular; Diagnóstico.

Introdução

A pecuária bovina é um dos setores mais importantes do agronegócio brasileiro e consequentemente da economia nacional. O Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo, é o maior exportador de carne bovina, segundo maior produtor de carne e sexto maior produtor de leite (USDA, 2014). Além dos grandes produtores, o setor do agronegócio familiar, com 5,6 milhões de propriedades de médio e pequeno porte, contribui a produção dos alimentos pecuários (IBGE, censo agropecuário 2006). O norte e noroeste do estado do Rio de Janeiro são regiões que compreendem 22 municípios, sendo a grande maioria das propriedades rurais de base familiar. Essas propriedades abastecem o comércio local e a si próprias com carnes e leite de animais provenientes de pequenos rebanhos que nem sempre contam com a infraestrutura necessária e nem com políticas públicas para garantir a adequada sanidade animal.

A Paratuberculose é considerada uma potencial ameaça à indústria pe-

cuária devido à sua natureza insidiosa (OIE, 2014). É clinicamente definida como uma enterite crônica causada pelo *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (MAP), que acomete todos os ruminantes, levando a síndrome de má absorção, diarreia e perda de peso e, eventualmente, a morte. A enfermidade manifesta-se em bovinos adultos jovens, sendo geralmente os bezerros nos primeiros meses de vida são os mais suscetíveis à infecção (BEHR & COLLINS, 2010). Após o período de incubação, de aproximadamente, de 2 a 5 anos, ocorre o aparecimento dos sinais clínicos. MAP é eliminado nas fezes e leite de animais infectados, tanto durante a manifestação clínica quanto na fase subclínica de infecção, contaminando outros animais e a pastagem, sendo a principal forma de transmissão fecal-oral. A transmissão também pode ocorrer por via vertical, por meio de infecção intra-uterina, do colostro de fêmeas infectadas ou do sêmen. A doença tem grande importância por causar prejuízos econômicos na pecuária como diminuição da produção leiteira, descarte prematuro dos animais, aumento dos custos sanitários. Além disso, há relatos de possível associação de infecção por MAP a doença de Crohn em humanos, sendo o principal veículo de transmissão é o leite contaminado (FARIA *et al.*, 2015; KLANICOVA *et al.*, 2012).

No Brasil, estudos realizados nos últimos 90 anos demonstraram que a PTB está presente em várias regiões do país (revisado por YAMASAKI *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2015 em submissão). Porém, nenhum estudo foi realizado na região Norte e Noroeste Fluminense. Rebanhos de pequenos produtores estão em maior risco da doença, devido ao baixo nível de percepção do problema pelos agricultores e grande comercialização de animais entre propriedades (trocas, vendas e empréstimos de animais). A prevalência da PTB nos rebanhos da região é desconhecida devido a carência no diagnóstico da infecção. Poucos grupos científicos estão envolvidos nos estudos da PTB na nossa região, e a maioria destes estão concentrados na área metropolitana da capital. Os estudos realizados no Brasil (TOMICH TR *et al.*, 2004) demonstram baixo nível de conhecimento dos pequenos produtores sobre problemas de saúde do rebanho, que levam a falta de medidas de controle e prevenção, indicando a necessi-



dade de trabalhos específicos abordando sanidade animal e conscientização da população local. Atualmente, no Brasil não existe programa de controle da PTB, diferentemente da tuberculose e brucelose bovina, cujo controle foi melhorado através de implementação no Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT). Uma explicação para a falta do programa de combate a PTB é que essa infecção micobacteriana é de difícil controle, especialmente pelo seu longo período de incubação, pela ausência de sinais clínicos nos estágios iniciais da doença, e também pela falta de métodos de diagnóstico laboratorial da doença, principalmente na etapa subclínica (MUNIR *et al.*, 2014). Nosso projeto visa melhorar o controle da PTB da região através da implementação dos programas educativos entre agricultores, realização do diagnóstico laboratorial da doença e elaboração de um plano individualizado de prevenção e controle da PTB em cada fazenda que aderiu ao projeto (trabalhando com produtor), ampliando cobertura dos agricultores no futuro.

Metodologia

- 1- Entrevista e aplicação de questionário para levantamento das representações dos sujeitos da pesquisa, mediante Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE); antes e após as ações de educação em saúde; Quantificação das respostas do questionário;
- 2- Distribuição de cartilhas informativas contendo informações sobre a doença e medidas preventivas e apresentação de palestras sobre PTB para agricultores nas localidades;
- 5- Coleta das amostras de fezes frescas e soros de bovinos suspeitos (com diarreia) e sadios nas fazendas que aderiram ao projeto;
- 6- Diagnóstico laboratorial através do método convencional (sorod diagnóstico), utilizando kit ELISA indireto comercial (PARAS-4P ID-Vet Screen® Paratuberculosis Indirect Screening test, França), e um teste ELISA novo, baseado na detecção de antígenos de *M. paratuberculosis* (APA) em fezes

bovinos, que foi elaborado na UENF;

- 7- Elaboração de um plano individualizado de prevenção e controle da PTB em cada fazenda que aderiu ao projeto, de acordo com os resultados do diagnóstico realizado.

Resultados e Discussão

1) Obtenção de dados sobre de que forma a PTB bovina é percebida pelos agricultores

Foram realizadas visitas dos membros da equipe as fazendas na região de Italva, Lagoa de Cima e São José de Ubá (total 10 fazendas). Durante a visita foi aplicado o questionário elaborado pela equipe com perguntas relacionadas à etiologia, transmissão, sintomas, diagnóstico e controle da doença, para avaliação do nível de conhecimento dos produtores. Além disso, foi iniciado um ciclo de palestras sobre PTB na Cooperativa de Leite do município de Italva/RJ e São José de Ubá/RJ (figura 1), onde o objetivo foi alertar os produtores sobre a PTB e o risco da introdução da doença no rebanho bem como apresentar medidas de controle.



Figura 1: Os membros de equipe (Giliane S. de Souza Cabral, Andreza Linhares e Letícia Bitencourt) durante a apresentação de palestra sobre PTB na Cooperativa de Leite de Italva/RJ.



Após a palestra foram distribuídas cartilhas de informação visando à conscientização do grupo e à sensibilização da comunidade em relação à PTB. Os dados obtidos através de questionários foram quantificados o que permitiu avaliar o nível de conhecimentos dos agricultores em relação a PTB. As respostas de todos os produtores (n=25-100%) foram negativas quanto ao conhecimento da doença. Apesar de todos os produtores desconhecerem a doença, esse resultado negativo refletiu num efeito positivo, visto que todos ficaram curiosos e receosos com a PTB e cederam suas fazendas para servir de base para nossa pesquisa.

II) Identificação de animais com PTB nos rebanhos da região através de avaliação clínica, métodos convencionais do diagnóstico laboratorial, incluindo o sorodiagnóstico (utilizando kit ELISA comercial) e novos testes imunoquímicos propostos para diagnóstico em fezes.

Em parceria com veterinários do Laboratório de Sanidade Animal da UENF e com consenso dos produtores, foram coletadas amostras de fezes e soro de bovinos (n=96) de rebanhos leiteiros (figura 2). Para coleta do material foram selecionados: a) todos os animais com sinais clínicos compatíveis com a PTB, tais como a diarreia, emagrecimento (total 15 animais) ou b) animais aparentemente saudáveis, maiores de 3 anos da idade, que foram selecionados aleatoriamente (total 80 animais).



Figura 2: Coleta de fezes e soros dos bovinos pelos membros da equipe numa fazenda.

Tabela 1: Frequência de vacas reagentes ao teste ELISA em rebanhos bovinos leiteiros nos municípios da Região Norte e Noroeste Fluminense

	São Jose de Ubá	Italva	Lagoa de Cima
Número (%) de vacas soropositivas	3 (12%)	3 (4,3%)	0
Total de amostras de soro avaliadas	25	70	1

Os resultados demonstram que cerca de 12% das amostras de soro coletadas em São Jose de Ubá (2 fazendas) e 4% dos coletados em Italva (6 fazendas), foram positivos demonstrando alto título dos anticorpos. Elevado título dos anticorpos anti-MAP demonstra infecção do animal pela micobactéria. Todos os animais soro-positivos apresentaram sinais clínicos compatíveis com a PTB, como emagrecimento e diarreia, o que fortemente sugere a PTB. Entretanto, para evitar resultados falso-positivos, a utilização de algum teste confirmatório, de preferência de detecção de micobactéria ou seus produtos, é recomendado. Para confirmar o diagnóstico utilizamos novo teste de diagnóstico fecal da PTB, baseado na detecção da proteína APA de *M. avium subsp. paratuberculosis*, APA-MAP em fezes (SOUZA *et al.*, 2011; patente submetida, 2015), através de ELISA. Estes testes ainda estão em andamento.

Conclusão

Os agricultores da nossa região desconhecem a PTB como doença, e não utilizam nenhuma medida para sua prevenção no gado bovino. Apresentam grande interesse para obter conhecimentos sobre a doença, realizar testes nos animais nas suas fazendas e implementar as práticas de gestão direcionadas para prevenção da PTB nos rebanhos. Nos rebanhos testados neste projeto-piloto, foram detectados 6 animais soro-positivos



nas 8 fazendas, o que sugere a PTB. Estes resultados preliminares ainda devem ser confirmados através de utilização de outro teste laboratorial (teste confirmatório).

Agradecimento

Agradecemos a todas as pessoas que contribuíram diretamente e indiretamente com este trabalho: o presidente da associação da cooperativa de Italva, Ruy, que nos recebeu gentilmente. À Uenf e Coox pelo suporte financeiro.

Referencias

BEHR M A. & COLLINS D.M. 2010. Paratuberculosis: Organism, disease, control. CAB international, Cambridge. 375p.

FARIA A.C.S., SCHWARZ D.G.G., CARVALHO I.A. , ROCHA B.B. , CASTRO K.N. DE CARVALHO, SILVA M.R., MOREIRA M.A.S. 2014. *Short communication: Viable Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* in retail artisanal Coalho cheese from Northeastern. Brazil Journal of Dairy Science Volume 97, Issue 7, Pages 4111–4114.

KLANICOVA B., SLANA I., ROUBAL P., PAVLIK I, KRALIK P. 2012. *Mycobacterium avium subsp paratuberculosis* survival during fermentation of soured milk products detected by culture and quantitative real time PCR methods International Journal of Food Microbiology, 157 , pp. 150–155.

MUNIR MT, MUNIR AR, MURTAZ UL HASSAN, ABUBAKAR M. 2014. Epidemiology, diagnosis and control options of johne's disease in endemic situations. Res. J. Vet. Pract. 2 (5): 84 – 90

OIE 2014. World Organization for Animal Health. Disponível em http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.11_PARATB.pdf.

SOUZA G.S., RODRIGUES A.B., GIOFFRÉ A., ROMANO M.I., CARVALHO E.C., VENTURA T.L. & LASUNSKAIA E.B. 2011. Apa antigen of *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* as a target for species-specific immunodetection of the bacteria in infected tissues of cattle with paratuberculosis. Vet. Immunol. Immunopathol. 143(1/2):75-82.

TOMICHT TR et al. Sistemas produtivos de assentamentos rurais do Município de Corumbá, MS. SIMPAN-2004, 2004

USDA. USDA Foreign Agricultural Service. Disponível em <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/>>. Acesso em agosto de 2015.

YAMASAKI E.M., BRITO M.F., MOTA R.A., MCINTOSH D. & TOKARNIA C.H. 2013. Paratuberculose em ruminantes no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 33(2):127-140.

