



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

PARATURBECULOSE EM RUMINANTES NA REGIÃO DO SEMIÁRIDO  
PARAIBANO-BRASIL.

THEONYS DIOGENES FREITAS

PATOS – PB  
SETEMBRO 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

PARATURBECULOSE EM RUMINANTES NA REGIÃO DO SEMIÁRIDO  
PARAIBANO-BRASIL.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Medicina Veterinária da Universidade Federal  
de Campina Grande como requisito parcial para a  
obtenção do título de Doutor em Medicina  
Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Clebert José Alves

Theonys Diogenes Freitas

DOUTORANDO

PATOS – PB

SETEMBRO 2014

## FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

F849p Freitas, Theonys Diogenes

Paratuberculose em ruminantes na região do semiárido paraibano-  
Brasil / Theonys Diogenes Freitas – Patos, 2014.

85f.: il. color.

Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de  
Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

“Orientação: Prof. Dr. Clebert José Alves”

“Coorientação: Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo”

Referências.

1. Paratuberculose. 2. Ruminantes. 3. Epidemiologia. I. Título.

CDU 616-036.22

**FICHA DE AVALIAÇÃO**

NOME: FREITAS, Theonys Diógenes

**TÍTULO: PARATURBECULOSE EM RUMINANTES NA REGIÃO DO SEMIÁRIDO PARAIBANO-BRASIL.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária.

**Tese Aprovada em 16.09.2014**

Banca Examinadora:

Prof. Dr.	Instituição:
Assinatura: _____	Julgamento: _____
_____	_____
Prof. Dr.	Instituição:
Assinatura: _____	Julgamento: _____
_____	_____
Prof. Dr.	Instituição:
Assinatura: _____	Julgamento: _____
_____	_____
Prof. Dr.	Instituição:
Assinatura: _____	Julgamento: _____
_____	_____
Prof. Dr.	Instituição:
_____	_____

Assinatura:

---

---

Julgamento:

---

---

*Dedico*

À Deus.

À minha mãe Rainha.

Aos meus pais, Antônio Lisboa e Vera Diógenes.

Aos meus irmãos, Theongenes e Danielly.

Aos meus filhos Maria Luiza e João, sentido de minha vida.

## AGRADEÇO

Ao Prof. Dr. Clebert José Alves pela confiança e apoio durante toda a minha jornada acadêmica;

Ao Prof. Dr. Sérgio Santos Azevedo pela amizade e apoio e durante mais etapa de realização profissional;

Aos Professores Franklin Riet-Correa e Flávio Medeiros que nos ajudaram no desenvolvimento desse trabalho.

A toda equipe técnica do LANAGRO-MG que mais uma vez contribuiu de forma significativa na minha formação e desenvolvimento do conhecimento, em especial ao Dr. Pesquisador Antônio Augusto Fonseca Junior pelo qual agradeço a toda sua equipe.

As Faculdades Integradas de Patos-FIP em especial ao Prof. Carlos Bezerra de Lima e todos os demais que compõe o curso de enfermagem pelo apoio que foi me dado durante a realização desse trabalho.

Aos pesquisadores Dra. Luana Cristini e Dr. Felício pela contribuição na fase inicial deste trabalho.

A Aracelli Medeiros Dias, mãe de meus filhos pelo apoio durante a realização de mais essa etapa de vida.

As minhas amigas, irmãs e Doutoradas Gisandra Braz, Carla Osório e Andressa Paim que me mesmo distante sempre me apoiaram nos momentos que estive na terra das alterosas.

A D. Francinete, técnica de laboratório do Laboratório de Doenças Transmissíveis, pelo auxílio;

A todos os amigos e familiares que sempre estiveram na expectativa e apoio para realização de mais este sonho.

## RESUMO

A presente tese foi constituída de uma revisão de literatura que aborda os principais aspectos relacionados com a epidemiologia da paratuberculose em pequenos ruminantes no Brasil e no mundo considerando as características do agente, fatores de risco, medidas de controle, impacto econômico e potencial zoonótico da doença. Um inquérito soro epidemiológico foi realizado com o intuito de identificar fatores de risco associados à ocorrência de paratuberculose (doença de Johne) em caprinos leiteiros na região semiárida do estado da Paraíba. Foram utilizadas 727 fêmeas caprinas provenientes de 86 propriedades do município de Monteiro-PB. Desses seis (0,82%) foram soropositivos no teste confirmatório após o de triagem, e das 86 propriedades seis (6,97%) apresentaram pelo menos um animal soropositivo. Nas propriedades positivas a frequência de animais reagentes variou de 5,26% a 16,60%. Os fatores de risco identificados foram: tipo de criação (recria e reprodução) (*odds ratio* = 36,0; IC 95% = 2,6 – 486,1;  $p < 0,001$ ) e ausência de tecnificação (*odds ratio* = 54,0; IC 95% = 4,5 – 642,9;  $p < 0,001$ ). Para análise comparativa entre as características moleculares e os achados histopatológicos quatro bovinos após análise clínica e epidemiológica foram eutanasiados e as amostras de tecidos foram coletadas e submetidas à análise histopatológica e molecular. Nos bovinos A e B, a lâmina própria do jejuno, íleo e ceco apresentava infiltrado inflamatório difuso, formado predominantemente por linfócitos. No jejuno e íleo dos bovinos C e D observou-se distorção e distensão por infiltrado inflamatório, difuso na lâmina própria e submucosa, predominantemente por macrófagos espumosos e células epitelióides. Em todos os animais, nas secções coradas com Ziehl-Neelsen havia bacilos álcool-ácido resistentes no citoplasma de macrófagos e células gigantes. Das desesseis amostras analisadas para o *Mycobacterium avium* subs. *paratuberculosis* (Map) todas foram consideradas negativas na RT-PCR. O sequenciamento genético revelou similaridade para bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis*. Diante dos resultados encontrados sugere-se que é de fundamental importância o diagnóstico diferencial da paratuberculose utilizando todos os recursos disponíveis sejam eles clínicos, epidemiológicos ou laboratoriais. E que posteriormente se faz necessário uma avaliação do custo benefício da implantação de um programa de controle da paratuberculose na região do semiárido assim como o seu real impacto nos rebanhos estudados.

**Palavras-Chaves:** paratuberculose, ruminantes, epidemiologia, Paraíba, Brasil.



## ABSTRACT

This thesis consisted of a literature review that addresses the main aspects related to the epidemiology of paratuberculosis in small ruminants in Brazil and in the world considering the characteristics of the agent, risk factors, control measures, economic impact and potential zoonotic disease. A seroepidemiological survey was conducted in order to identify risk factors associated with the occurrence of paratuberculosis (Johne's disease) in dairy goats in semi-arid region of Paraíba State. 727 female goats from 86 farms in Monteiro-PB. Among the 727 animals used, 6 (0.82%) were HIV positive confirmatory test after screening, and 86 properties 6 (6.97%) had at least one positive animal. Positive properties in the frequency of positive animals ranged from 5.26% to 16.60%. The risk factors identified were: type of farming (growing and reproducing) (odds ratio = 36.0, 95% CI = 2.6 to 486.1,  $p < 0.001$ ) and absence of technicization (odds ratio = 54.0 95% CI = 4.5 to 642.9,  $p < 0.001$ ). For comparative analysis between molecular characteristics and histopathological findings after four bovine clinical and epidemiological analysis were euthanized and samples submitted to histopathological and molecular analysis. In cattle A and B, the lamina propria of the jejunum, ileum and cecum showed diffuse inflammatory infiltrate, consisting mostly of lymphocytes in the jejunum and ileum of cattle C and D was observed distortion and distension by diffuse inflammatory infiltration in the lamina propria and submucosa predominantly by foamy macrophages and epithelioid cells. In all animals, the sections stained with Ziehl-Neelsen had acid-fast bacilli in the cytoplasm of macrophages and giant cells. Of the 16 samples analyzed for Map all were negative in real-time PCR, and subjected to conventional PCR for detection of *Mycobacterium* spp. observed positive results in five samples, two from the bovine C (jejunum and ileum) and three bovine D (jejunum, ileum and mesenteric lymph nodes). Genetic sequencing revealed similarity to bacteria of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. Considering the results suggesting that it is of fundamental importance for differential diagnosis of paratuberculosis using all available resources be they clinical, epidemiological or laboratory. And that later becomes necessary to evaluate the cost benefit of deploying a paratuberculosis control program in the semiarid region and its real impact on the herds.

**Key Words:** Paratuberculosis, Ruminants, Epidemiology, Paraíba, Brazil.

## SUMÁRIO

REFERÊNCIAS .....	17
CAPÍTULO I.....	19
Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à infecção por <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> em caprinos leiteiros no semiárido brasileiro.....	20
Resumo.....	20
Abstract .....	21
Introdução .....	21
Material e Métodos .....	22
Resultado e Discussão.....	24
Conclusões .....	26
Referências.....	26
CAPÍTULO II- Aplicação da técnica de RT-PCR na confirmação do diagnóstico em bovinos suspeitos de paratuberculose no semiárido paraibano-Brasil. ....	32
ABSTRACT .....	33
RESUMO.....	34
INTRODUÇÃO .....	35
MATERIAIS E MÉTODOS .....	36
Epidemiologia e sinais clínicos.....	36
Alterações macroscópicas .....	37
Alterações microscópicas.....	38
RESULTADO .....	38
DISCUSSÃO.....	39
REFERÊNCIA .....	41
CAPÍTULO III- Epidemiologia da paratuberculose em pequenos ruminantes .....	46
ABSTRACT.....	47
Introdução .....	48
Avaliação Econômica.....	48
Caráter Zoonótico.....	49

Etiopatogenia.....	51
Situação Epidemiológica Atual.....	53
Aspectos relevantes aos fatores de risco associados à presença do agente .....	57
Controle da Paratuberculose em pequenos ruminantes .....	60
Vacinação.....	60
Práticas de Gestão nas Propriedades .....	61
Considerações Finais.....	62
REFERÊNCIAS .....	63
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	73
ANEXOS.....	74

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

Tabela 1- Frequência de caprinos soropositivos para a infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) no semiárido paraibano, no período de março de 2009 a julho de 2011. .... 29

Tabela 2- Análise univariada para os fatores de risco associados com a infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) em caprinos do semiárido paraibano, no período de março de 2009 a julho de 2011. .... 29

Tabela 3- Fatores de risco associados com a infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) em caprinos do semiárido paraibano, no período de março de 2009 a julho de 2011, estimados por regressão logística múltipla..... 31

### CAPÍTULO III

Tabela 1- Levantamento bibliográfico sobre prevalência em caprinos e ovinos entre os anos de 2000 a 2013..... 54

Tabela 2- Levantamento bibliográfico dos possíveis fatores de risco relacionados à ocorrência e manutenção do agente nos rebanhos. .... 58

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO II

Figura 1- . Material coletado durante a necropsia no rebanho C. A) Jejuno espessado com aspecto enrugado e mucosa hemorrágica. B) Linfonodos mesentéricos aumentados de volume. C) superfície de corte dos linfonodos mesentéricos apresentando áreas esbranquiçadas (seta).

..... 44

Figura 2- Material coletado durante a necropsia no rebanho D. A) Jejuno com infiltração de macrófagos, células gigantes e linfócitos (HE, Obj. 40). B) Numerosos macrófagos repletos de bacilos ácido-alcool resistentes. (Coloração de Ziehl-Neelsen, Obj. 40).....45

## INTRODUÇÃO

A Paratuberculose também conhecida como doença de Johne é uma enfermidade infecciosa crônica, causada pelo *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) que ocorre em diversas partes do mundo afetando principalmente ruminantes domésticos e com menor frequência ruminantes selvagens, equinos, suínos, lebres, raposas e roedores (RAIZMAN et al., 2005; MARAVKOVAN et al., 2008). A doença foi descrita inicialmente em bovinos por JOHNE; FROTHINGHAM (1895). Na espécie ovina em 1911 por STOCKMAN e cabras por TWORT em 1912, atualmente apresenta-se distribuída na Europa, Asia, Africa e Oceania. Nas Américas, a doença em pequenos ruminantes tem sido descrita, nos EUA, Mexico, Argentina, Canadá, Chile e Brasil. (KRUZE et al., 2006; PITHUA; KOLLIAS 2012; BAUMAN 2013; OLIVEIRA et al., 2010; TRAVERIA et al., 2013). No Brasil, a doença de Johne foi relatada pela primeira vez, no ano de 1915, no Jornal do Comércio, em bovinos da raça Flamengo importados da Bélgica, no então Posto Zootécnico Federal de Pinheiro, no estado do Rio de Janeiro, pelo Professor Otávio Dupont (DUPONT 1915). Atualmente há descrições da enfermidade em vários estados do país e em diversas espécies de ruminantes; estudos demonstraram que a paratuberculose está presente em 11 estados brasileiros em bovinos, búfalos, ovinos e caprinos (YAMASAKI et al., 2013). A paratuberculose em caprinos foi reproduzida experimentalmente por POESTER; RAMOS em 1994, e na Paraíba, OLIVEIRA et al. (2010) realizaram pela primeira vez o diagnóstico clínico e anatomopatológico da doença em caprinos e ovinos.

A caprinocultura e a ovinocultura têm se destacado no agronegócio brasileiro. O rebanho caprino nacional é estimado em 8,6 milhões de animais, distribuído em 436 mil estabelecimentos agropecuários. Grande parte do rebanho caprino encontra-se no nordeste, com ênfase para Bahia, Pernambuco, Piauí, Ceará e Paraíba. Já rebanho ovino é composto por 16,7 milhões de animais com maior representatividade na região Nordeste e no estado do Rio Grande do Sul (IBGE, 2012). A Carne, o leite, a pele e a lã estão entre os principais produtos envolvidos na cadeia produtiva da caprinoovinocultura. O rebanho caprino paraibano ocupa o quinto lugar do rebanho nacional sendo que a microrregião do Cariri Ocidental paraibano destaca-se na exploração da ovinocaprinocultura. A exploração de cabras leiteiras é uma atividade econômica em ascensão no Brasil. Porém, a produtividade por animal ainda é considerada baixa. Dentre outros fatores, as doenças infecciosas, tais como a paratuberculose,

1 podem contribuir para este problema, levando a uma diminuição da produção de leite e  
2 possível potencial zoonótico.

3 No Brasil a bovinocultura representa uma das principais atividades lucrativas do  
4 agronegócio, com 212,8 milhões de cabeças (IBGE, 2012), distribuídas em cerca de 2,67  
5 milhões de estabelecimentos pecuários (IBGE, 2006), o que representa o segundo maior  
6 rebanho mundial em número de cabeças, em número de abates e em produção de carne  
7 (USDA, 2011) e desde 2008 é o maior exportador de carne bovina. E quanto à pecuária  
8 leiteira, ocupa a sexta posição mundial. As principais perdas econômicas decorrentes da  
9 presença da paratuberculose nos rebanhos são: redução da eficiência alimentar, diminuição da  
10 produção láctea, diminuição da gordura e proteína do leite, redução do peso de abate,  
11 diminuição da fertilidade e aumento na incidência de mastite (NIELSEN, 2011). Acredita-se  
12 que represente perdas estimadas de US \$ 200 milhões só nos EUA (OTT et al., 1999) sendo  
13 uma das doenças de importância na produção animal (HASONOVA PAVLIK, 2006). Devido  
14 o aumento da incidência nos últimos 10 anos sugere-se que esses números sejam bem maiores  
15 (STABEL, 2007). No Reino Unido, as perdas econômicas, em rebanhos de ovinos infectados  
16 com paratuberculosis pode variar de 24 £ -94 £ por ovelha (CALDOW; GUNN, 2000). Em  
17 recente trabalho realizado por Malone et al., (2013) com infecção experimental por Map  
18 para avaliar o ganho de peso de em caprinos observou que as cabras com doença de Johne tem  
19 um ganho de peso reduzido quando comparado com cabras saudáveis da mesma idade  
20 durante um período de seis meses , sugerindo que esse parâmetro inespecífico poderia ser  
21 utilizado como ferramenta de monitoramento da infecção do rebanho.

22 O potencial zoonótico da doença não está completamente esclarecido. Sabe-se que  
23 10% dos animais na fase subclínica eliminam o bacilo no leite. Podendo este resistir à  
24 pasteurização e ser uma importante via de transmissão para as populações humanas. Map  
25 parece estar relacionado à etiologia da doença de Chron como seu agente causativo, ou um  
26 dos fatores de uma síndrome de multi etiológica. O Map foi isolado em 70% dos pacientes  
27 com a doença de Chron o que poderia indicar seu papel pertinente nesta infecção (HERMON  
28 2000; COUSSENS 2004; SHIN et al.,2004). Diante da falta de dados a respeito da  
29 paratuberculose no Brasil se faz necessário conhecer a situação da doença em ruminantes na  
30 região semiárida do estado da Paraíba assim como a identificação das características  
31 epidemiológicas, afim de, instituir medidas de controle e profilaxia da doença.

1 A presente tese que apresenta como tema a Paratuberculose em ruminantes na região do  
2 semiárido da Paraíba-Brasil. Realizado no Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da  
3 Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Com a colaboração do Laboratório  
4 Nacional de Agropecuária localizado na cidade de Pedro Leopoldo-MG (LANAGRO-MG).  
5 Sendo composto por três capítulos. O Capítulo I, aborda o tema: “Caracterização  
6 epidemiológica e fatores de risco associados à infecção por *Mycobacterium avium* subsp.  
7 *paratuberculosis* em caprinos leiteiros no semiárido brasileiro” o qual foi submetido ao  
8 periódico *Semina: Ciências Agrárias*. Capítulo II, com o título “Análise comparativa entre a  
9 caracterização molecular e os achados histopatológicos em bovinos suspeitos de  
10 paratuberculose no semiárido brasileiro” submetido ao periódico, *Pesquisa Veterinária*  
11 *Brasileira*. Capítulo III, uma revisão de literatura com o tema: “Situação Epidemiológica da  
12 paratuberculose em pequenos ruminantes, submetido ao periódico *Arquivos do Instituto*  
13 *Biológico*.

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27



## REFERÊNCIAS

- 1  
2
- 3 BAUMAN, CATHY. **Paratuberculosis in the Small Ruminant Dairy Industries of Ontario: Prevalence, Risk Factors, and Test Evaluations**. 2013. Tese de Doutorado. The University of  
4  
5 Guelph.
- 6 CALDOW, G., GUNN, G.J. Assessment of surveillance and control of Johne's disease in farm animals  
7 in Great Britain. Trends in the incidence rate of ulcerative colitis and Crohn's disease. **Dig Dis Sci**. v  
8 29 p. 913–920, 2000.
- 9 COUSSENS, PAUL M. Model for immune responses to Mycobacterium avium subspecies  
10 paratuberculosis in cattle. **Infection and immunity**, v. 72, n. 6, p. 3089-3096, 2004.
- 11 DUPONT O. 1915. **Jornal do Comércio** do Rio de Janeiro de 5.11.1915.
- 12 HASONOVA, L.; PAVLIK, I. Economic impact of paratuberculosis in dairy cattle herds: a  
13 review. **Veterinarian Medicine**, v. 51, n. 5, p. 193-211, 2006.
- 14 HERMON-TAYLOR, John et al. Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in the causation  
15 of Crohn's disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 6, n. 5, p. 630-632, 2000.
- 16 KRUZE, JUAN et al. Goat paratuberculosis in Chile: first isolation and confirmation of  
17 Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis infection in a dairy goat. **Journal of veterinary  
18 diagnostic investigation**, v. 18, n. 5, p. 476-479, 2006.
- 19 IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2006: Brasil, grandes  
20 regiões e unidades da federação**. 2009. Disponível em:  
21 <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/agropecuario.pdf>>.  
22 Acesso em: 05 maio 2013.
- 23 IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal. 2011**.  
24 Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2011/default.shtm>>. Acesso em: 05 ago 2012.
- 26 IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da Pecuária Municipal.2012**.  
27 Disponível em : < [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2012/default\\_pdf.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2012/default_pdf.shtm)> .  
28 Acesso em: 06 ago 2014
- 29 JOHNE N. & FROTHINGHAM I. Ein eigentümlicher Fall von Tuberculose beim Rind. **Dtsch. Z.  
30 Tiermed.** 21:438- 454.1895. MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.  
31 **Exportação**. 2013. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal>>. Acesso em: 05 maio  
32 2013.  
33
- 34 MORAVKOVA M., HLOZEK P., BERAN V., PAVLIK I., PREZIUSO S., CUTERI V. & BARTOS  
35 M. Strategy for the detection and differentiation of *Mycobacterium avium* species in isolates and  
36 heavily infected tissues. **Res.Vet. Sci**, v.85, n.2, p. :257-264, 2008.
- 37 NIELSEN, SØREN SAXMOSE; TOFT, NILS. Effect of management practices on paratuberculosis  
38 prevalence in Danish dairy herds. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 4, p. 1849-1857, 2011.
- 39 OLIVEIRA, DIEGO M. et al. Paratuberculose em caprinos e ovinos no Brasil. **Pesq. Vet. Bras**, v. 30,  
40 n. 1, p. 67-72, 2010.

- 1 OLVERA M, ESTELA TERESITA et al. Detección de *Mycobacterium avium* paratuberculosis en  
2 caprinos ubicados en una zona semi-árida en el municipio de Tecozautla Hidalgo. **Revista de Salud**  
3 **Animal**, v. 35, n. 3, p. 182-188, 2013.
- 4 OTT, STEPHEN L., SCOTT J. WELLS, AND BRUCE A. WAGNER. "Herd-level economic losses  
5 associated with Johne's disease on US dairy operations." **Preventive veterinary medicine**, v. 40, n. 3,  
6 p. 179-192, 1999.
- 7 PITHUA P. & KOLLIAS N.S. Estimated prevalence of caprine paratuberculosis in Boer goat herds in  
8 Missouri, USA. **Vet. Med.Int**, p. 1-5, 2012.
- 9 POESTER F.P & RAMOS E.T. Infecção experimental em caprinos com *Mycobacterium*  
10 *paratuberculosis* de origem bovina. **Ciênc. Rural**, v. 24, p. 333-337, 1994.
- 11 RAIZMAN, ERAN A. et al. *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis from free-ranging deer  
12 and rabbits surrounding Minnesota dairy herds. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 69, n.  
13 1, p. 32, 2005.
- 14 SHIN, J.S., YOO, H.S., MCDONOUGH, S.P., CHANG, Y. Comparative antibody response of 5  
15 recombinant antigens in related to bacterial shedding levels and development of serological diagnosis  
16 based on 35KDa antigen for Map. **J. Vet. Sci.**, v. 5, p. 111-117, 2004.
- 17 STABEL, JUDITH R.; KIMURA, KAYOKO; ROBBE-AUSTERMAN, SUELEE. Augmentation of  
18 secreted and intracellular gamma interferon following johnin purified protein derivative sensitization  
19 of cows naturally infected with *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis. **Journal of Veterinary**  
20 **Diagnostic Investigation**, v. 19, n. 1, p. 43-51, 2007.
- 21
- 22 STOCKMAN S. Johne's disease of sheep. **J. Comp. Path. Ther**, v. 24, p. 66-69, 1911.
- 23 TRAVERÍA, G. E. et al. First identification of *Mycobacterium avium* paratuberculosis sheep strain in  
24 Argentina. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 897-899, 2013.
- 25 TWORT FW, INGRAM G.L.Y. A method for isolating and cultivating *Mycobacterium enteritidis*  
26 *chronicae pseudotuberculosis bovis*, Johne, and some experiments on the preparation of a diagnostic  
27 vaccine for pseudotuberculous enteritis of bovines. **Vet J**, v. 68, p. 353-365, 1912.
- 28
- 29 USDA - United States Department of Agriculture. *Production, supply and distribution online -*  
30 *Livestock*. 2011. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline>>. Acesso em: 20 maio 2013.
- 31 YAMASAKI, ELISE M. et al. Paratuberculosis in ruminants in Brasil: a review. **Pesquisa Veterinária**  
32 **Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 127-140, 2013.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21

**CAPÍTULO I**

**Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à infecção por  
*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em caprinos leiteiros no semiárido  
brasileiro**

Artigo submetido ao periódico *Semina: Ciência Agrárias*, Londrina – PR, Qualis B1

1  
2 Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à infecção por *Mycobacterium*  
3 *avium* subsp. *paratuberculosis* em caprinos leiteiros no semiárido brasileiro  
4  
5

6 **Epidemiological characterization and risk factors associated with *Mycobacterium avium***  
7 **subsp. *Paratuberculosis* infection in dairy goats in the Brazilian semiarid**  
8

9 Theonys Diógenes Freitas<sup>1</sup>; Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva<sup>1</sup>; Felício Garino Júnior<sup>2</sup>; Sérgio  
10 Santos de Azevedo<sup>2</sup>; Carolina de Sousa Américo Batista Santos<sup>3</sup>; Inácio José Clementino<sup>1</sup>; Franklin  
11 Riet-Correa Amaral<sup>2</sup>; Clebert José Alves<sup>2\*</sup>

12 **Resumo**  
13

14 O presente trabalho teve como objetivo realizar um inquérito soro epidemiológico e identificar fatores  
15 de risco associados à ocorrência de paratuberculose (doença de Johne) em caprinos leiteiros na região  
16 semiárida do Estado da Paraíba. Foram utilizadas 727 fêmeas caprinas provenientes de 86 propriedades  
17 do município de Monteiro-PB, no período de março de 2009 a julho de 2011. Para o diagnóstico  
18 sorológico da infecção pelo *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* (Map) foram utilizados  
19 dois testes de ELISA indireto (triagem e confirmatório). Dos 727 animais utilizados, seis (0,82%)  
20 foram soropositivos no teste confirmatório após a triagem, e das 86 propriedades seis (6,97%)  
21 apresentaram pelo menos um animal soropositivo. Nas propriedades positivas a frequência de animais  
22 reagentes variou de 5,26% a 16,60%. Os fatores de risco identificados foram tipo de criação (recria e  
23 reprodução) (*odds ratio*= 36,0; IC 95% = 2,6 – 486,1;  $p < 0,001$ ) e ausência de tecnificação (*odds*  
24 *ratio*= 54,0; IC 95% = 4,5 – 642,9;  $p < 0,001$ ). Conclui-se que o *Mycobacterium avium* subsp.  
25 *paratuberculosis* está presente em rebanhos de caprinos leiteiros da região, porém, sua influência na  
26 diminuição da produtividade assim como o risco de transmissão para humanos através dos produtos de  
27 origem animal devem ser objetos de estudos posteriores. Com base na análise de fatores de risco  
28 recomendam-se melhorias no nível de tecnificação das propriedades bem como no manejo do sistema  
29 de exploração das matrizes caprinas.

---

<sup>1</sup>Discentes do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB. E-mail: theonysfreitas@hotmail.com; luacristiny@yahoo.com.br; clementinoij@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Docentes do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, UFCG, Patos, PB. E-mail: pulga.garino@uol.com.br; sergio.azevedo@pq.cnpq.br; riet@cstr.ufcg.edu.br; clebertja@uol.com.br

<sup>3</sup>Pós-Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, UFCG, Patos, PB. E-mail: carolamerico@yahoo.com.br

1  
2 **Palavras-chave:** *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, pequenos ruminantes, epidemiologia,  
3 controle

#### 4 **Abstract**

5  
6 The aim of this work was to conduct an epidemiological study and to identify risk factors associated  
7 with the occurrence of paratuberculosis (Johne's disease) in dairy goats in the semiarid region of  
8 Paraíba State. It were used 727 female goats from 86 flocks in the county of Monteiro-PB during the  
9 period of March 2009 to July 2011. For the serological diagnosis of *Mycobacterium avium* subsp.  
10 *Paratuberculosis* (Map) infection indirect ELISA tests (screening and confirmatory) were performed.  
11 Of the 727 animals used six (0.82%) were seropositive at the confirmatory test after screening, and of  
12 the 86 flocks six (6.97%) presented at least one seropositive animal. In positive flocks the frequency of  
13 reactant animals ranged from 5.26% to 16.60%. Risk factors identified were production system  
14 (weaning and reproduction) (*odds ratio*= 36.0; 95% CI = 2.6 – 486.1;  $p < 0,001$ ) and absence of  
15 technification (*odds ratio*= 54.0; 95% CI = 4.5 – 642.9;  $p < 0,001$ ). It is concluded that  
16 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* is present in dairy goat flocks in the region, however,  
17 its influence on decrease of productivity as well as the risk of transmission to humans through animal  
18 products must be subject for further works. Based on the risk factor analysis it is recommended the  
19 increase in the technification level of the flocks as well as in the production system of the female  
20 goats.

21  
22 **Palavras-chave:** *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, smallruminants, epidemiology,  
23 control

#### 24 **Introdução**

25  
26 A paratuberculose, também conhecida como doença de Johne, é uma enfermidade infecciosa  
27 crônica, causada pelo *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* (Map) que ocorre em diversas  
28 partes do mundo, afetando principalmente ruminantes domésticos e com uma menor frequência  
29 ruminantes selvagens, eqüinos, suínos, lebres, raposas e roedores (RAIZMAN et al.,  
30 2005; MORAVKOVA et al., 2008; MOTA et al., 2010). No Brasil, a paratuberculose em caprinos foi  
31 reproduzida experimentalmente por Poester e Ramos (1994), e na Paraíba, Oliveira et al. (2010)  
32 realizaram pela primeira vez o diagnóstico clínico e anatomopatológico da doença em dois rebanhos  
33 caprinos.

1  
2 A doença pode ser transmitida pela ingestão de alimento e água contaminados por fezes de  
3 animais que eliminam o microrganismo, colostro e leite, podendo ocorrer também infecção intra-  
4 uterina (MANNING et al., 2007). Em caprinos a principal via de transmissão é a fecal-oral,  
5 acometendo principalmente animais jovens, porém após meses ou anos é que a doença pode  
6 manifestar os sinais clínicos. Contudo, com a infecção, os animais desenvolvem uma resposta imune e  
7 a eliminação do agente no ambiente ocorre de forma intermitente (STERMAN, 1996). A doença,  
8 geralmente, se manifesta em animais acima de um ano de idade (CLARKE, 1997), caracterizada  
9 principalmente por emaciação progressiva, podendo ou não ocorrer diarreia, o que difere dos bovinos,  
10 nos quais a diarreia é um sinal clínico característico (KUMAR et al., 2007; SINGH et al., 2007).

11 Anteriormente acreditava-se que a ocorrência da doença nos rebanhos brasileiros estava ligada  
12 à importação de animais provenientes de áreas endêmicas, porém sabe-se que este não é fator único  
13 para a sua disseminação, uma vez que a infecção já foi detectada em propriedades sem histórico de  
14 importação (DRIEMEIER et al., 1999). Essa situação levanta preocupações do ponto de vista  
15 epidemiológico, pois não se sabe ao certo como estes rebanhos foram infectados, e nem mesmo quais  
16 os fatores são responsáveis pela manutenção do agente no ambiente.

17 O objetivo do presente trabalho foi determinar a prevalência de propriedades positivas (focos)  
18 e frequência de animais soropositivos para a infecção por *Mycobacterium avium* subsp.  
19 *Paratuberculosis* (Map) em caprinos leiteiros do semiárido brasileiro, bem como identificar fatores de  
20 risco, utilizando amostragem planejada.

## 21 **Material e Métodos**

22  
23 O trabalho foi conduzido no município de Monteiro (7°53'S, 37°5'W), estado da Paraíba,  
24 Brasil. O estado dividido em quatro meso regiões: Sertão Paraibano, Borborema, Agreste Paraibano e  
25 Mata Paraibana; e em 23 microrregiões. O município de Monteiro fica localizado na mesorregião da  
26 Borborema e na microrregião do Cariri Ocidental. Monteiro é limitado ao norte pelo município de  
27 Prata, ao sul pelos municípios de São Sebastião do Umbuzeiro e Zabelê, a leste pelos municípios de  
28 Camalaú e Sumé, e a oeste pelos municípios de Sertânia, Iguaraci e Tuparetama, estado de  
29 Pernambuco. O clima da região é semiárido, com temperatura média de 22°C. A altitude é 599 metros  
30 acima do nível do mar. O município se destaca na produção de leite de cabra no estado da Paraíba e no  
31 Brasil. Possui o maior efetivo de caprinos do estado, com 25.200 animais (BRASIL, 2011).

32 A amostragem das propriedades foi simples aleatória a partir de quadro amostral fornecido  
33 pelo Centro de Desenvolvimento Integrado da Caprinovinocultura da Paraíba (CENDOV). O número  
34 de propriedades a serem amostradas foi calculado com o programa EpiInfo versão 6.04, com o  
35 emprego dos seguintes parâmetros: prevalência esperada de propriedades positivas de 20% (LEE et al.,  
36 2006), nível de confiança de 95% e erro absoluto de 10%. De acordo com a fórmula para amostras

1 aleatórias simples (THRUSFIELD, 1995), e levando-se em consideração que havia 155 propriedades  
 2 de exploração de cabras leiteiras cadastradas, conforme informações do CENDOV, o número de  
 3 propriedades a serem visitadas foi de 61.

4 Em seguida, o número de caprinos a serem selecionados foi determinado individualmente por  
 5 rebanho para a detecção da presença da infecção, utilizando a seguinte fórmula (THRUSFIELD,  
 6 1995):

$$n = \left[ 1 - (1 - p)^{\frac{1}{d}} \right] \times \left( N - \frac{d}{2} \right) + 1$$

7  
 8  
 9  
 10  
 11  
 12 Onde:

13 n = tamanho da amostra;

14 p = probabilidade de detecção de pelo menos um animal soropositivo;

15 N = tamanho do rebanho;

16 d = número de animais soropositivos no rebanho.

17  
 18 A probabilidade de detecção de pelo menos um animal soropositivo no rebanho foi  
 19 determinada no nível de confiança de 95% (p=0,95), e o número de animais soropositivos por rebanho  
 20 (d) foi calculado assumindo prevalência intra-rebanho de 10% (LEE et al., 2006).

21 No total, foram amostradas 727 fêmeas caprinas adultas procedentes de 86 propriedades.  
 22 Foram colhidos 10mL de sangue por punção da veia jugular utilizando tubosa vácuo. As amostras foram  
 23 centrifugadas e os soros foram armazenados a -20°C até a realização da sorologia por ELISA.

24 No momento da coleta de sangue foi aplicado um questionário epidemiológico por  
 25 propriedade, estruturado de maneira a obter dados relativos a possíveis fatores de risco associados à  
 26 ocorrência da doença em nível de rebanho. Foram coletadas informações acerca de 29 variáveis: a  
 27 caprinocultura ser a principal atividade da propriedade; sistema de manejo; tipo de exploração;  
 28 finalidade de exploração; número de cabras em lactação; produção diária de leite; tamanho do  
 29 rebanho; presença de bovinos, eqüinos, suínos, aves e animais selvagens; presença de plantas  
 30 tóxicas; possuir assistência veterinária; compra de animais; alimentação (pastagem nativa); possuir  
 31 centro de manejo; suplementação mineral; possuir sala de ração; tecnificação (denotada pela existência  
 32 de energia elétrica, ordenha mecânica, tanque de resfriamento, etc.); presença de pastagens alagadas;  
 33 presença de roedores; realização de vermifugação; utilização de piquetes de parição; realização de  
 34 quarentena; separação de animais por faixa etária; realização de higiene das instalações com  
 35 desinfetantes; realização de corte e desinfecção do umbigo; isolamento de animais doentes. As

1 informações obtidas com os questionários foram inseridas em um formulário eletrônico elaborado no  
2 programa Microsoft Access® e utilizadas na análise de fatores de risco.

3 Para o diagnóstico sorológico da infecção por Map, foram utilizados dois testes de ELISA: um  
4 para triagem utilizando o kit *ID Screen® Paratuberculosis Indirect Screening*; e nos animais que  
5 reagiram positivamente nesse teste, foi aplicado a prova confirmatória utilizando o kit *ID Screen®*  
6 *Paratuberculosis Indirect Confirmation Test*. Ambos os métodos foram realizados conforme as  
7 recomendações do fabricante e seguindo as normas da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE,  
8 2008).

9 Os fatores de risco foram analisados em duas etapas: análises univariável e multivariável. A  
10 análise univariável foi realizada com o teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher (ZAR, 1999), e  
11 as variáveis que apresentaram  $P \leq 0,20$  foram submetidas à análise multivariável, utilizando-se o  
12 método *stepwiseforward* de regressão logística (HOSMER; LEMESHOW, 2000). O nível de  
13 significância da análise multivariável foi de 5%. O ajuste do modelo final foi verificado com o teste de  
14 Hosmer e Lemeshow, no qual  $P \geq 0,05$  indicou ajuste satisfatório. A colinearidade entre as variáveis  
15 independentes foi avaliada utilizando-se análise de correlação, e quando duas variáveis foram  
16 fortemente correlacionadas (coeficiente de correlação  $> 0,90$ ), apenas uma variável foi incluída na  
17 análise multivariável, de acordo com a plausibilidade biológica (DOHOO et al., 1996). Os testes foram  
18 realizados com o programa *SPSS for Windows* versão 20.0.

## 19 **Resultado e Discussão**

20  
21 No Brasil, dados de ocorrência da paratuberculose em rebanhos caprinos são escassos, o que  
22 torna muito relevante a condução de estudos epidemiológicos para verificar a condição sanitária dos  
23 rebanhos e dos fatores que podem contribuir para a difusão da infecção. A análise sorológica revelou  
24 que 0,82% (seis) animais foram considerados positivos. Das 86 propriedades amostradas, 6,97% (seis)  
25 apresentaram pelo menos um animal positivo para Map. Entre as propriedades consideradas positivas  
26 a frequência de animais reagentes variou de 5,26 a 16,6% (Tabela 1).

27 Esses resultados indicam que o agente está presente em rebanhos caprinos na região estudada.  
28 Em outros, vários trabalhos conduzidos apontaram frequências de positividade variadas. Na Índia,  
29 Singh et al. (2010), utilizando o teste de ELISA, encontraram positividade em 57,1% dos caprinos  
30 utilizados, resultado bastante diferente do encontrado neste trabalho. Por outro lado, Mendes et al.  
31 (2004) encontraram, em Portugal, variação de 1,0-8,9% de positividade. Já no Chile a frequência  
32 encontrada por Salgado et al. (2007) foi de 14,6%. Na Coreia, Lee et al. (2006) também encontraram  
33 variação de 4,6% a 38,2% em diferentes regiões. Recentemente, Pithua e Kollias (2012) estimaram a  
34 prevalência da paratuberculose em 1,9% em caprinos e 2,0% em propriedades, em uma área endêmica  
35 nos EUA, valores esses próximos aos encontrados no presente trabalho. Mercier et al. (2010),  
36 trabalhando com caprinos leiteiros na França, estimaram prevalências de 2,9% a 6,0% em animais, e



1 de 55,2% em nível de rebanho. As diferenças nas frequências de positividade entre os vários estudos e  
2 o resultado encontrado neste trabalho podem ser justificadas pela sensibilidade e especificidade do  
3 teste de ELISA, que pode variar de acordo com o rebanho, o estágio de infecção, assim como a  
4 utilização de diferentes kits comerciais encontrados no mercado e características epidemiológicas  
5 como tipo de criação, manejo e taxa de lotação. Molina et al. (1991) relataram o uso de um ELISA em  
6 populações de caprinos com diferentes prevalências na Espanha, observando uma sensibilidade de  
7 88% em um grupo de cabras com histopatológica e cultura positivas, e especificidade de 94% em um  
8 grupo de animais saudáveis e com cultura negativa. O que se sabe é que o desempenho do teste pode  
9 estar associado com a prevalência da doença e gravidade das lesões. Segundo Manning et al. (2007) a  
10 ocorrência de linfadenite caseosa nos rebanhos pode influenciar na diminuição da especificidade do  
11 ELISA aplicado ao diagnóstico da paratuberculose, fato este que deve ser levado em consideração,  
12 uma vez que a linfadenite caseosa é uma doença com ampla ocorrência na região Nordeste do Brasil. O  
13 teste pode apresentar alta sensibilidade, em torno de 75%, quando a infecção está na fase clínica ou  
14 terminal. Por outro lado, em estágios iniciais ou latentes, a sensibilidade é baixa, de aproximadamente  
15 15% (TIMMS et al., 2011; YAMASAKI et al., 2013).

16 Na análise dos fatores de risco, as variáveis selecionadas na análise univariável (Tabela 2)  
17 foram ( $P \leq 0,20$ ): tipo de exploração, presença de equídeos, alimentação, existência de sala de ração,  
18 tecnificação, presença de pastos alagados, realização de corte e desinfecção de umbigo. Na análise  
19 multivariável, foram identificados os seguintes fatores de risco (Tabela 3): exploração do tipo  
20 recria/reprodução ( $oddsratio = 36,0$ ; IC 95% = 2,6 - 486,1;  $p < 0,001$ ) e ausência de tecnificação  
21 ( $oddsratio = 54,0$ ; IC 95% = 4,5 - 642,9;  $p < 0,001$ ). O modelo final apresentou ajuste adequado (teste  
22 de Hosmer e Lemeshow:  $P = 1,000$ ). O elevado valor das *oddsratios* dos fatores de risco pode não  
23 refletir o risco real e pode ser justificado pelo pequeno número de propriedades positivas ( $n = 6$ ). No  
24 entanto, ambas as variáveis apresentaram significância estatística ( $P < 0,05$ ; IC 95% da *oddsratio* sem  
25 incluir o valor 1).

26 Embora a principal via de transmissão da paratuberculose em caprinos seja a fecal-oral  
27 (STERMAN et al., 1996), em propriedades cujo tipo de exploração é o de recria/reprodução, a  
28 transmissão intra-uterina ou através do colostro assume importância e pode estar contribuindo para a  
29 ocorrência e manutenção do agente nos rebanhos. No presente trabalho a ausência de tecnificação foi  
30 associada à maior ocorrência de propriedades positivas. Existência de energia elétrica, utilização de  
31 equipamentos de ordenha, resfriamento do leite e inseminação artificial são variáveis frequentemente  
32 utilizadas como indicadores do nível de tecnificação das propriedades rurais (CHATE et al., 2009). A  
33 presença de tais práticas e infra-estrutura denota a necessidade de incorporação de tecnologias e por  
34 conseqüência de técnicas e práticas sanitárias mais adequadas, de maneira que a sua ausência pode  
35 influenciar de maneira significativa na manutenção do agente nas propriedades.

36 O Map representa um grande desafio para a Medicina Veterinária e em especial para a  
37 produção de ruminantes. Sugere-se que as medidas de controle da paratuberculose na região estudada

1 sejam pautadas em duas linhas de ações: a primeira refere-se à alteração no modo de gestão da  
 2 propriedade a fim de diminuir a transmissão. Em propriedades com histórico da doença pode-se incluir  
 3 a separação dos cabritos logo após o nascimento, substituição do colostro e melhoria nas práticas de  
 4 higiene. A segunda recomendação de controle inclui medidas como: aquisição de animais  
 5 provenientes de propriedades controladas e a prática do teste e abate com o intuito de eliminar as  
 6 possíveis fontes de infecção. Esta última apresenta como fatores limitantes a baixa disponibilidade de  
 7 diagnóstico laboratorial no país, custo para a realização dos exames e dificuldade da reposição de  
 8 rebanho. Sabe-se que essas medidas podem não trazer efeitos imediatos e, conseqüentemente, são logo  
 9 abandonadas pelos proprietários e dificilmente serão implantadas na região.

## 10 **Conclusões**

11

12 Constatou-se que a infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* está presente  
 13 em rebanhos de caprinos leiteiros do semiárido paraibano, e com base na análise de fatores de risco,  
 14 recomenda-se melhorias no nível de tecnificação das propriedades bem como no manejo do sistema de  
 15 exploração das matrizes caprinas. Há necessidade de realização de trabalhos posteriores a fim de  
 16 identificar e quantificar a influência da infecção na diminuição da produtividade, assim como o risco  
 17 de transmissão do agente para humanos através de produtos de origem animal.

## 18 **Referências**

19

20 BRASIL.Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).*Sistema IBGE de Recuperação*  
 21 *Automática – SIDRA, Pesquisa da Pecuária Municipal*.2011. Disponível  
 22 em:<<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>.Acessoem: 8 mai.2013.

23

24 CLARKE, C.J. The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species: a  
 25 review. *JournalofComparativePathology*, New York, v. 116, n. 3, p. 217-261,1997.

26

27 CHATE, S. C.; DIAS, R. A.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; MORAES, G. M.; COSTA NETO, A. A.;  
 28 MONTEIRO, L. A. R. C.; LÔBO, J. R.; FIGUEIREDO, V. C. F.; GONÇALVES, V. S. P.;  
 29 FERREIRA NETO, J. S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Mato Grosso do  
 30 Sul. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 61, supl. 1, p. 46-55,  
 31 2009.

32

33 DOHOO, I. R.; DUCROC, C.; FOURICHON, C.; DONALD, A.; HURNIK, D. An overview of  
 34 techniques for dealing with large numbers of independent variables in epidemiologic studies.  
 35 *PreventiveVeterinary Medicine*,New York, v. 29, n. 3, p. 221-239, 1996.

36

37 DRIEMEIER, D.; CRUZ, C. E. F.; GOMES, M. J. P.; CORBELLINI, L. G.; LORETTI, A. P.;  
 38 COLODELE, M. Aspectos clínicos e patológicos da paratuberculose em bovinos no Rio Grande do  
 39 Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 19, n. 3-4, p. 109-115, 1999.

40

- 1 HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S. *Applied logistic regression*. New York: John Wiley & Sons, 2000.  
2 373 p.  
3
- 4 LEE, K. W.; JUNG, B. Y.; MOON, O. K.; YANG, D. K.; LEE, S. H.; KIM, J. Y.; KWEON, C. H.  
5 Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Korean Black Goats (*Capra*  
6 *hircusaegagrus*). *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 68, n. 12, p. 1379-1381, 2006.  
7
- 8 KUMAR, P.; SINGH, S.V.; BHATIYA, A.K.; SEVILLA, I.; SINGH, A.V.; WHITTINGTON, R.J.;  
9 JUSTE, R.A.; GUPTA, V.K.; SINGH, P.K.; SOHAL, J.S.; VIHAN, V.S. Juvenile capri-  
10 paratuberculosis (JCP) in India: Incidence and characterization by six diagnostic tests. *Small Ruminant*  
11 *Research*, v. 73, n. 1, p. 45-53, 2007.  
12
- 13 MANNING, J. B. E.; CUSHING, H. F.; HIETALA, S.; WOLF, C. B. Impact  
14 of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection on serologic surveillance for Johne's disease in goats.  
15 *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 19, n. 2, p. 187-190, 2007.  
16
- 17 MENDES, S.; BOINAS, F.; ALBUQUERQUE, T.; FERNANDES, L.; AFONSO, A.; AMADO, A.  
18 Epidemiological studies on paratuberculosis in small ruminants in Portugal. *Épidémiologie et Santé*  
19 *Animale*, n. 45, p. 61-71, 2004.  
20
- 21 MERCIER, P.; BAUDRY, C.; BEAUDEAU, F.; SEEGER, H.; MALHER, X. Estimated prevalence  
22 of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in herds of dairy goats in  
23 France. *Veterinary Record*, v. 167, n. 11, p. 412-415, 2010.  
24
- 25 MOLINA, A.; MORERA, L.; LANES, D. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of  
26 antibodies against *Mycobacterium paratuberculosis* in goats. *American Journal of Veterinary*  
27 *Research*, v. 52, n. 6, p. 863-868, 1991.  
28
- 29 MORAVKOVA, M.; HLOZEK, P.; BERAN, V.; PAVLIK, I.; PREZIUSO, S.; CUTERI, V.;  
30 BARTOS, M. Strategy for the detection and differentiation of *Mycobacterium avium* species in  
31 isolates and heavily infected tissues. *Research in Veterinary Science*, v. 85, n. 2, p. 257-264, 2008.  
32
- 33 MOTA, R. A.; PEIXOTO, P. V.; YAMASAKI, E. M.; MEDEIROS, E. S.; COSTA, M. M.;  
34 PEIXOTO, R. M.; BRITO, M. F. Ocorrência de paratuberculose em búfalos (*Bubalus bubalis*) em  
35 Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 30, n. 3, p. 237-242, 2010.  
36
- 37 OIE. World Organization for Animal Health. Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines  
38 for Terrestrial Animals. Paratuberculosis (Johne's disease). 2008. Disponível  
39 em: <<http://www.oie.int/eng/normes/mmanual>>. Acesso em: 27 nov. 2011.  
40
- 41 OLIVEIRA, D. M.; RIET-CORREA, F.; GALIZA, G. J. N.; ASSIS, A. C. O.; BANDARA, P. M.;  
42 GARINO JR, F. Paratuberculose em caprinos e ovinos no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.  
43 30, n. 1, p. 67-72, 2010.  
44
- 45 PITHUA, P.; KOLLIAS, N. S. Estimated prevalence of caprine paratuberculosis in Boer goat herds in  
46 Missouri, USA. *Veterinary Medicine International*, v. 2012, p. 1-5, 2012.  
47
- 48 POESTER, F. P.; RAMOS, E. T. Infecção experimental em caprinos com *Mycobacterium*  
49 *paratuberculosis* de origem bovina. *Ciência Rural*, v. 24, n. 2, p. 333-337, 1994.  
50
- 51 RAIZMAN, E. A.; WELLS, S. J.; JORDAN, P. A.; DELGIUDICE, G. D.; BEY, R.R. *Mycobacterium*  
52 *avium* subsp. *paratuberculosis* from free ranging deer and rabbits surrounding Minnesota dairy herds.  
53 *Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 69, n. 1, p. 32-38, 2005.

1 SALGADO, M.; KRUZE, J.; COLLINS, M. T. Diagnosis of paratuberculosis by fecal culture and  
2 ELISA on milk and serum samples in two types of Chilean dairy goat herds. *Journal of Veterinary*  
3 *Diagnostic Investigation*, v. 19, n. 1, p. 99-102, 2007.

4  
5 SINGH, P. K.; SINGH, S. V.; KUMAR, H.; SOHAL, J. S.; SINGH, A. V. Diagnostic application of  
6 IS900 PCR using blood as a source sample for the detection of *Mycobacterium avium* subspecies  
7 *paratuberculosis* in early subclinical cases of caprine paratuberculosis. *Veterinary Medicine*  
8 *International*, v. 2010, p. 1-8, 2010.

9  
10 SINGH, S. V.; SINGH, A. V.; SINGH, P. K.; GUPTA, V. K.; KUMAR, S.; VOHRA, J. Sero-  
11 prevalence of paratuberculosis in young kids using 'Bison type', *Mycobacterium avium* subsp.  
12 *Paratuberculosis* antigen in plate ELISA. *Small Ruminant Research*, v. 70, n. 2, p. 89-92, 2007.

13  
14 STERMAN, S. M. Paratuberculosis in small ruminants, deer, and South American camelids. *The*  
15 *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, v. 12, n. 2, p. 441-445, 1996.

16  
17 TIMMS, V. J.; GEHRINGER, M. M.; MITCHELL, H. M.; DASKALOPOULOS, G.; NEILAN, B.A.  
18 How accurately can we detect *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection? *Journal of*  
19 *Microbiological Methods*, v. 85, n. 1, p. 1-8, 2011.

20  
21 THRUSFIELD, M. *Veterinary Epidemiology*. 2ed. Cambridge: Blackwell Science, 1995. 479p.

22  
23 YAMASAKI, E. M.; BRITO, M. F.; MOTA, R. A.; McINTOSH, D.; TOKARNIA, C.H.  
24 Paratuberculose em ruminantes no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, n. 2, p. 127-140,  
25 2013.

26  
27 ZAR, J.H. *Biostatistical analysis*. 4 ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999. 663p.

28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42

1 **Tabela 1- Frequência de caprinos soropositivos para a infecção por *Mycobacterium avium* subsp.**  
 2 ***paratuberculosis* (Map) no semiárido paraibano, no período de março de 2009 a julho de 2011.**

Propriedade	N° de animais examinados	Animais positivos (%)
39	9	1 (11,10%)
51	11	1(9,09%)
57	6	1 (16,60%)
61	10	1 (10,00%)
77	11	1 (9,09%)
81	19	1 (5,26%)

3 **Fonte:** Elaboração dos autores.

4

5 **Tabela 2- Análise univariada para os fatores de risco associados com a infecção por *Mycobacterium***  
 6 ***avium*subsp. *paratuberculosis* (Map) em caprinos do semiárido paraibano, no período de março de 2009 a**  
 7 **julho de 2011.**

Variável	N° total de propriedades	N° de propriedades positivas (%)	p
Caprinocultura é a principal atividade da propriedade			
Não	31	2(6,5)	1,000
Sim	55	4(7,3)	
Sistema de Manejo			
Intensiva	1	0(0,0)	0,708
Semi-intensiva	78	5(6,4)	
Extensiva	7	1(14,3)	
Tipo de exploração			
Cria	80	4(5)	0,054*
Recria/reprodução	6	2(33,3)	
Finalidade de exploração			
Corte/Mista	6	0(0,0)	1,000
Leite	80	6(7,5)	
N° de cabras em lactação			
Até 14 animais	45	3(6,7)	1,000
>14 animais	41	3(7,3)	
Produção diária de leite			
Até 14 litros	43	3(42,0)	1,000
>14 litros	43	3(55,9)	
Tamanho do Rebanho			
Até 25animais	43	3(7,0)	1,000
>25 animais	43	3(7,0)	
Presença de Bovinos			
Não	26	3(11,5)	0,361
Sim	60	3(5,0)	
Presença de eqüídeos			
Não	66	3(4,5)	0,135*
Sim	20	3(15,0)	

Presença de suínos				
Não	60	5(8,3)		
Sim	26	1(3,8)	0,663	
Presença de aves				
Não	21	1(4,8)		
Sim	65	5(7,7)	1,000	
Presença de animais silvestres				
Não	58	4(6,9)		
Sim	28	2(7,1)	0,386	
Presença de plantas tóxicas				
Não	68	4(5,9)		
Sim	18	2(11,1)	0,601	
Possui assistência veterinária				
Não	80	6(100,0)		
Sim	6	0(0,0)	1,000	
Realiza compra de animais				
Não	85	5(8,5)		
Sim	1	1(3,7)	0,660	
Alimentação (pastagem nativa)				
Não	2	1(50,0)		
Sim	84	5(6,0)	0,135*	
Possui centro de manejo				
Não	62	4(6,5)		
Sim	24	2(8,3)	0,670	
Suplementação mineral				
Não	34	2(5,9)		
Sim	52	4(7,7)	1,000	
Possui sala para ração				
Não	57	6(10,5)		
Sim	29	0(0,0)	0,093*	
Tecnificação				
Não	7	3(42,9)		
Sim	79	3(3,8)	0,006*	
Presença de pasto alagado				
Não	74	4(5,4)		
Sim	12	2(16,7)	0,195*	
Presença de roedores				
Não	33	3(9,1)		
Sim	53	3(5,7)	0,671	
Realiza vermifugação				
Não	6	0(0,0)		
Sim	80	6(7,5)	1,000	
Utiliza piquetes de parição				
Não	78	6(7,7)		
Sim	8	0(0,0)	1,000	
Realiza quarentena				
Não	75	5(6,7)		
Sim	11	1(9,1)	0,572	
Realiza separação de animais por faixa etária				

Não	41	3(7,3)	
Sim	45	3(6,7)	1,000
Realiza higiene das Instalações com desinfetantes			
Não	42	4(9,5)	
Sim	44	2(4,5)	0,428
Realiza corte e desinfecção do umbigo			
Não	57	6(10,5)	
Sim	29	0(0,0)	0,930*
Isola animais doentes			
Não	50	5(10,0)	
Sim	36	1(2,8)	0,394

\* Variáveis selecionadas e usadas na regressão logística múltipla ( $p \leq 0,20$ )

2

3 **Fonte:** Elaboração dos autores.

4 **Tabela 3- Fatores de risco associados com a infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis***  
5 **(Map) em caprinos do semiárido paraibano, no período de março de 2009 a julho de 2011, estimados por**  
6 **regressão logística múltipla**

Fatores de risco	Oddsratio	IC 95%	p
Exploração do tipo recria/reprodução	36,0	2,6 - 486,1	<0,001
Ausência de tecnificação	54,0	4,5 - 642,9	<0,001

7

8

9 **Fonte:** Elaboração dos autores.

10

11

12

13

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20

## CAPÍTULO II

**Aplicação da técnica de RT-PCR na confirmação do diagnóstico em bovinos suspeitos de paratuberculose no semiárido paraibano-Brasil.**

Artigo submetido ao periódico *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica – RJ, Qualis

A2



1 **Aplicação da técnica de RT-PCR na confirmação do diagnóstico em bovinos suspeitos de**  
 2 **paratuberculose no semiárido paraibano-Brasil.**

3  
 4 Theonys D. Freitas<sup>2</sup>, Franklin R.C. Amaral<sup>2</sup>, Sérgio S. Azevedo<sup>2</sup>, Antônio F.M. Dantas<sup>2</sup>,  
 5 Rinaldo A. Mota<sup>3</sup>, Antônio A. Fonseca Junior<sup>4</sup>, Clebert J. Alves<sup>2\*</sup>

6  
 7 ABSTRACT .- Freitas T.D., Amaral F.R.C., Azevedo S.S., Dantas A.F.M., Mota R.A.,  
 8 Fonseca Júnior A.A. & Alves C.J. 2014. [**Comparative analysis between molecular**  
 9 **characterization and histopathological findings in paratuberculosis-suspected bovine in**  
 10 **Brazilian semiarid.**] Análise comparativa entre a caracterização molecular e os achados  
 11 histopatológicos em bovinos suspeitos de paratuberculose no semiárido brasileiro. *Pesquisa*  
 12 *Veterinária Brasileira* x(xx):xxx-xxx. Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária (UAMV),  
 13 Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Universidade Federal de Campina Grande  
 14 (UFCG), Patos, PB 58700-970, Brasil. E-mail: clebertja@uol.com.br

15  
 16 The objective of this study was the use of RT-PCR using fixation tissue from cattle  
 17 paratuberculosis suspects. Four animals after clinical and epidemiological analysis were  
 18 euthanized and ileum samples, cecum, jejunum and mesenteric lymph nodes were collected  
 19 and submitted to histopathological and molecular analysis. In cattle from herds A and B, the  
 20 lamina propria of the jejunum, ileum and cecum had diffuse inflammatory infiltrate composed  
 21 predominantly of lymphocytes. Was observed, too, polymorph nuclear leukocytes and  
 22 macrophages. In the jejunum and ileum of cattle herds C and D was observed distortion and  
 23 strain by inflammatory infiltrate, diffuse in and submucosa own blade, predominantly of  
 24 foamy macrophages and epithelioid cells and, to a lesser degree, lymphocytes, giant cells and  
 25 leukocytes nuclear polymorph. In all animals in sections stained with Ziehl-Neelsen staining  
 26 was acid-fast bacilli in the cytoplasm of macrophages and giant cells. However, in the case of  
 27 animals from the herd C and D, there were numerous macrophages filled with rods, while in  
 28 the case of herd animals A and B were less numerous macrophages and contained fewer rods.  
 29 Of the 16 samples analyzed for Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis (Map) all were  
 30 negative in RT-PCR. Genetic sequencing revealed similarity to bacteria of the  
 31 Mycobacterium tuberculosis complex, suggesting that it is of fundamental importance the  
 32 differential diagnosis of bovine paratuberculosis using all available resources be they clinical,  
 33 epidemiological or laboratory.

34 INDEX TERMS: Paratuberculosis, cattle, RT-PCR, semi-arid paraibano- Brazil.

1 RESUMO.- O objetivo do presente trabalho foi uso da técnica de RT-PCR utilizando  
2 tecidos formolizados provenientes de bovinos suspeitos de paratuberculose. Quatro  
3 animais após análise clínica e epidemiológica foram eutanasiados e as amostras de íleo, ceco,  
4 jejuno e linfonodo mesentérico foram coletadas e submetidas à análise histopatológica e  
5 molecular. Nos bovinos provenientes dos rebanhos A e B, a lâmina própria do jejuno, íleo e  
6 ceco apresentava infiltrado inflamatório difuso, formado predominantemente por linfócitos.  
7 Observavam-se, também, macrófagos e leucócitos polimorfo nucleares. No jejuno e íleo dos  
8 bovinos dos rebanhos C e D observou-se distorção e distensão por infiltrado inflamatório,  
9 difuso na lâmina própria e submucosa, predominantemente por macrófagos espumosos e  
10 células epitelióides e, em menor intensidade, linfócitos, células gigantes e leucócitos  
11 polimorfo nucleares. Em todos os animais, nas secções coradas com Ziehl-Neelsen havia  
12 bacilos álcool-ácido resistentes no citoplasma de macrófagos e células gigantes. No entanto,  
13 nos casos dos animais provenientes dos rebanhos C e D, havia numerosos macrófagos  
14 repletos de bacilos, enquanto que nos casos dos animais dos rebanhos A e B os macrófagos  
15 eram menos numerosos e continham menor número de bacilos. Das 16 amostras analisadas  
16 para *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) todas foram consideradas  
17 negativas na RT-PCR. O seqüenciamento genético revelou similaridade para bactérias do  
18 complexo *Mycobacterium tuberculosis*, sugerindo que é de fundamental importância o  
19 diagnóstico diferencial da paratuberculose bovina utilizando todos os recursos disponíveis  
20 sejam eles clínicos, epidemiológicos ou laboratoriais.

21 TERMOS DE INDEXAÇÃO: Paratuberculose, bovinos, RT- PCR, semiárido paraibano-  
22 Brasil.

23

24

25

26

27

28

29

30

## INTRODUÇÃO

*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) é o agente causal da paratuberculose também conhecida como doença de Johne, uma infecção crônica de ruminantes domésticos e selvagens caracterizada por diarreia crônica e caquexia (Rawther et al. 2012). A principal via de transmissão é fecal-oral pela ingestão de alimento ou água contaminados por fezes de animais que eliminam o microorganismo, também podendo ocorrer através do colostro, leite e infecção intra-uterina (Streeter et al. 1995) ou por meio de contato direto com animais infectados (Whittington & Sargento 2001).

As principais lesões macroscópicas ocorrem no intestino delgado, sendo caracterizadas por acentuado espessamento da mucosa, que assume aspecto rugoso, e aumento de tamanho dos linfonodos mesentéricos. Os principais achados histopatológicos consistem em enterite, linfangite e linfadenite granulomatosas associados à presença de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) em macrófagos (Kreeger 1991, Chiodini et al. 1996, Driemeier et al. 1999). A mucosa e a parede do intestino são infiltrados com células inflamatórias formando granulomas que danificam a integridade luminal. Da mesma forma, a inflamação inibe a capacidade do intestino de absorver nutrientes, causando hipoproteïnemia e desnutrição (Cocito et al. 1994, Secott et al. 2002).

Métodos bacteriológicos, imunológicos, patológicos e genéticos são utilizados no diagnóstico da infecção, porém mostram eficácias variáveis de acordo com a evolução da forma crônica (Chiodini et al. 1996, Tripathi et al. 2002). O cultivo de Map a partir de fezes e tecidos é um método altamente específico, porém demorado, podendo chegar até 12 semanas e com baixa sensibilidade (Cocito et al. 1994). O exame histológico é rápido, fácil e barato no diagnóstico da paratuberculose bovina. A visualização aglomerados de BAAR dentro de macrófagos, especialmente na lâmina própria e submucosa intestinal, está associada ao diagnóstico positivo (Huda & Jensen 2003). Por outro lado, a reação em cadeia pela polimerase (PCR) é uma ferramenta de diagnóstico rápida para detecção de Map em fezes e tecidos com sua sensibilidade sendo comparável com a da cultura bacteriana (Tripathi et al. 2002). Nos casos em que ocorrem falhas na cultura bacteriana, o método de PCR utilizando tecidos parafinados ou fixados em formol permite o diagnóstico bacteriano e auxilia na confirmação de casos suspeitos de paratuberculose (Whittington et al. 1999, Miller

1 2002). O objetivo do presente trabalho foi uso da técnica de RT-PCR utilizando tecidos  
2 formolizados provenientes de bovinos com avaliação clínica e patológica sugestiva de  
3 paratuberculose atendidos no Hospital Veterinário (HV) da Universidade Federal de Campina  
4 Grande (UFCG), em Patos-PB.

## 5 **MATERIAIS E MÉTODOS**

6  
7 Foram utilizadas amostras provenientes de quatro rebanhos com bovinos suspeitos de  
8 paratuberculose. Nos rebanhos A e B os dados epidemiológicos foram coletados junto aos  
9 produtores. Nos rebanhos C e D os dados epidemiológicos foram coletados das fichas  
10 clínicas do setor de Clínica de Grandes Animais do HV/UFCG, pois os produtores tinham  
11 vendido todos os animais.

12 Quatro animais suspeitos foram examinados clinicamente e eutanasiados, sendo um de  
13 cada rebanho (A, B, C e D). Durante a necropsia foram coletadas amostras de jejuno, íleo,  
14 ceco e linfonodos mesentéricos. Os tecidos coletados foram fixados em formol a 10%. Após a  
15 fixação, as amostras foram incluídas em parafina, cortadas a 5µm e coradas com  
16 Hematoxilina e Eosina. Os fragmentos coletados foram corados pela técnica de Ziehl-  
17 Neelsen.

18 Para o diagnóstico molecular de Map, o DNA da amostra foi extraído utilizando a  
19 metodologia fenólica descrita por Sambrook & Russell (2012). A RT-PCR para Map foi  
20 realizada de acordo com Irengue et al. (2009) e Sales et. al. (2013). O seqüenciamento foi  
21 realizado em equipamento ABI3130 (Life Technologies, Estados Unidos).

22

### 23 **Epidemiologia e sinais clínicos**

24

25 No rebanho A, município de São Mamede, havia um rebanho de 16 bovinos da raça  
26 Holandesa e cruzas, com idade entre seis meses a oito anos. Os animais eram mantidos semi-  
27 confinados e alimentados com concentrados (farelos de trigo e de milho). A doença foi  
28 caracterizada clinicamente em uma vaca, de três anos de idade, que apresentava diarreia

1 frequente e emagrecimento há aproximadamente três meses. No momento do exame a vaca  
2 estava magra, com desidratação de aproximadamente 6%, mucosas oculares rosadas e apetite  
3 caprichoso.

4 No rebanho B, município de Patos, havia 18 bovinos da raça Gir, Girolandoe cruzas,  
5 de seis meses a 13 anos de idade. Os animais eram semiconfinados e suplementados com  
6 concentrado no final da tarde. Paratuberculose foi caracterizada clinicamente em um touro de  
7 quatro anos de idade, da raça Gir, que apresentava diarréia e emagrecimento progressivo há  
8 aproximadamente dois meses, alimentava-se de capim elefante e recebia concentrado no final  
9 da tarde. No exame clínico o animal apresentava-se caquético, com desidratação de  
10 aproximadamente 7%, mucosas oculares pálidas e fezes diarréicas em pequenas quantidades.

11 No rebanho C, município de São José de Espinharas, havia 100 animais SRD, de  
12 quatro meses a oito anos de idade. Os animais eram criados no sistema de regime semi-  
13 intensivo e no final da tarde recebiam capim elefante, palma forrageira e concentrado a base  
14 de soja, milho e trigo. A doença foi caracterizada clinicamente em uma vaca de três anos e  
15 seis meses de idade, que no final do tarde recebia capim elefante, palma forrageira e  
16 concentrado a base de soja, milho e trigo, e apresentava emagrecimento progressivo, perda do  
17 apetite, diarréia e diminuição da produção de leite há 20 dias. No exame clínico o animal  
18 apresentava-se ativo, magro, com desidratação de aproximadamente 7% e mucosas oculares  
19 pálidas.

20 No rebanho D, município de Passagem, havia 15 animais da raça Holandesa e cruzas,  
21 de cinco meses a nove anos de idade, e os animais eram criados intensivamente, alimentando-  
22 se de capim elefante e grama. A paratuberculose foi caracterizada clinicamente em um touro  
23 de três anos de idade apresentava diminuição do apetite e diarréia. No exame clínico o animal  
24 apresentava-se em estação, ativo, magro, com desidratação de aproximadamente 8%, mucosas  
25 oculares rosa pálida e apetite caprichoso.

## 26 **Alterações macroscópicas**

27

28 Dos quatro animais necropsiados, o bovino do rebanho C apresentava na pele áreas com  
29 crostas irregulares e avermelhadas na região dorsal. Todos os casos apresentavam edema do  
30 mesentério e linfonodos mesentéricos aumentados de volume com áreas esbranquiçadas no  
31 córtex (Fig. 1B e 1C). O bovino do rebanho D apresentava na cavidade abdominal dois litros  
32 de líquido translúcido. Nos bovinos provenientes dos rebanhos C e D observou-se  
33 espessamento e enrugamento do jejuno, íleo e cólon (Fig. 1A) e as placas de Peyer estavam

1 aumentadas de volume. Havia áreas hemorrágicas na mucosa do intestino delgado e no  
2 intestino grosso. Nos bovinos provenientes dos rebanhos A e B não foram observadas lesões  
3 macroscópicas.

#### 4 **Alterações microscópicas**

5

6 No jejuno, íleo e ceco dos bovinos provenientes dos rebanhos C e D, observou-se a lâmina  
7 própria e a submucosa, distorcidas e distendidas por infiltrado inflamatório difuso,  
8 predominantemente por macrófagos espumosos e células epitelióides e, em menor  
9 intensidade, linfócitos, células gigantes e leucócitos polimorfonucleares (Fig. 2A). O  
10 infiltrado inflamatório na lâmina própria causava acentuado espessamento da mucosa e havia  
11 atrofia e fusão das vilosidades. No íleo observava-se infiltrado granulomatoso nos folículos  
12 linfóides e ocasionalmente infiltrado linfocitocitário ao redor de vasos da serosa. Edema da  
13 submucosa também foi observado. Os linfonodos mesentéricos apresentaram depleção  
14 linfóide e havia infiltrado de macrófagos espumosos e células gigantes nas zonas cortical e  
15 medular. No bovino do rebanho D observou-se infiltrado linfocitocitário de intensidade  
16 leve no fígado, na região periportal. Nos bovinos dos rebanhos A e B, a lâmina própria do  
17 jejuno e do íleo apresentava infiltrado inflamatório difuso, formado predominantemente por  
18 linfócitos. Observavam-se, também, macrófagos e leucócitos polimorfonucleares. Na  
19 submucosa o infiltrado era de intensidade leve. Os linfonodos mesentéricos apresentaram  
20 depleção linfóide. No bovino do rebanho B observou-se infiltrado multifocal de macrófagos  
21 espumosos e polimorfonucleares na zona cortical e medular dos linfonodos. Em todos os  
22 animais, nas secções coradas com Ziehl-Neelsen, havia bacilos álcool-ácido resistentes no  
23 citoplasma de macrófagos e células gigantes. No entanto, nos casos dos animais dos rebanhos  
24 C e D havia numerosos macrófagos repletos de bacilos (Fig. 2B), enquanto que nos casos dos  
25 rebanhos A e B os macrófagos eram menos numerosos e continham menor número de bacilos.

#### 26 **RESULTADO**

27

28 Das 16 amostras analisadas para Map todas foram consideradas negativas na RT-PCR. Com o  
29 intuito de verificar a que agente pertencia o DNA proveniente das amostras foi realizado o  
30 seqüenciamento genético, o qual revelou similaridade para bactérias do complexo  
31 *Mycobacterium tuberculosis* após análise no programa Blast para comparação com as  
32 seqüência do GenBank.

## DISCUSSÃO

Nos quatro rebanhos avaliados, as lesões histológicas e características clínicas da doença são compatíveis com paratuberculose e semelhantes a diversos outros resultados descritos anteriormente Behr & Collins (2010) e Dalto et al. (2012). Os sinais clínicos da paratuberculose não são específicos, e comuns a diversas enfermidades que afetam o trato intestinal que podem causar diarreia crônica e debilidade em animais adultos. Sendo assim, doenças como salmonelose, parasitoses gastrointestinais e outros agentes do complexo *Mycobacterium* devem ser considerados no diagnóstico diferencial (Driemeier et al. 1999).

No nordeste do Brasil, Mota et al. (2009), utilizando a história clínica, achados anátomo-histopatológicos (Ziehl-Neelsen), e microbiológicos relataram o primeiro diagnóstico de paratuberculose em bovinos na Paraíba assim como no estado do Pernambuco (Mota et al. 2007) e em outras regiões do país (Ristow et al. 2006, Yamasaki et al. 2010). A presença de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) no tecido lesionado pode ser considerado sugestivo no diagnóstico da paratuberculose, uma vez que diversos outros agentes do gênero *Mycobacterium* também apresentam essa característica. Segundo Mota et al. (2007) essa técnica deve ser interpretada com cautela, uma vez que Merkal et al. (1987) evidenciaram micobactérias em 76% dos tecidos de animais com resultado negativo de paratuberculose no cultivo e na histopatologia. Com relação à sensibilidade da coloração de Ziehl-Neelsen em tecidos, nos casos subclínicos o valor diagnóstico é limitado e, nos casos clínicos, o bacilo é detectado em apenas 46% dos casos confirmados mediante cultivo fecal. Some-se a isso o fato de que este método é considerado rápido e barato, porém não permite distinguir entre os membros da família Mycobacteriaceae (Zanini 2002) de outros microrganismos como *Corynebacterium*, *Nocardia* e *Rhodococcus*, que tem as mesmas características tintoriais (Pritchard 1988).

1 A detecção de Map via PCR baseado na seqüência IS900 pode gerar equívocos no  
2 diagnóstico molecular devido à existência de seqüência similares, *like-IS900*, em outras  
3 espécies de micobactérias e o mesmo deve ser interpretado com cautela. Por outro lado, a  
4 seqüência F57 é considerada exclusiva do Map (Poupart et al. 1993, Englund et al. 2002).  
5 Todas as amostras submetidas a RT-PCR utilizando a seqüência de inserção IS900 e F57  
6 foram consideradas negativas. Porém devemos levar em consideração que essas amostras de  
7 tecidos encontravam-se anteriormente formolizadas e isso pode ter causado a contaminação  
8 com inibidores de PCR ocasionando resultados falso-negativos. O resultado referente ao  
9 seqüenciamento genético das amostras utilizadas neste trabalho é bastante interessante tendo  
10 em vista que o complexo *Mycobacterium tuberculosis* é composto pelas espécies  
11 *Mycobacterium tuberculosis*, *M.bovis*, *M. africanum*, Bacille Calmette-Guérin (BCG),  
12 *M.microti*, *M.canetti*, *M.caprae* e *M.pinnipedii*. *M. tuberculosis* e *M. bovis* se destacam por  
13 serem os agentes causadores da tuberculose humana e bovina, respectivamente (O'Reilly &  
14 Daobrn 1995). Sabe-se hoje que a tuberculose bovina é uma doença endêmica e que se  
15 encontra amplamente distribuída no Brasil. As lesões provocadas por *M. bovis* tem  
16 localização preferencial nos linfonodos (mediastínicos, retro faríngeos, bronquiais, parotídeos,  
17 cervicais, inguinais superficiais e mesentéricos), pulmão e fígado, e também podem estar  
18 presentes em intestino e tecido mamário. Nenhum dos animais utilizados neste trabalho  
19 apresentou qualquer lesão macroscópica sugestiva de tuberculose bovina, dificultando então o  
20 resultado diferencial levando em consideração os exames clínicos e dados epidemiológicos.  
21 Esses resultados vão de encontro com as observações feitas por Rajeev et al. (2005), que  
22 sugeriram que a combinação de testes diagnósticos como a cultura, coloração de Ziehl-  
23 Neelsen e PCR são essenciais para confirmação de Map em animais infectados.

24 No planejamento inicial deste trabalho o objetivo principal era a confirmação do  
25 diagnóstico de animais suspeitos de paratuberculose através das técnicas de RT-PCR, e os  
26 dados clínicos, epidemiológicos e as lesões histopatológicas sugeriram que Map poderia estar  
27 presente nos rebanhos estudados, causando prejuízos econômicos e risco de futuro problema  
28 zoonótico na população. No entanto, o seqüenciamento genético revelou que o agente  
29 presente nas lesões pertencia ao complexo *Mycobacterium tuberculosis*, causando certa  
30 contradição e ao mesmo tempo chamando atenção para que os resultados da ocorrência de  
31 doenças infecciosas nos rebanhos devem ser avaliados com critério, principalmente quando se  
32 trata de enfermidades envolvendo micobactérias, uma vez que além de apresentar uma



1 gama de variações de espécies patogênicas e não patogênicas, em determinadas situações  
 2 podem gerar erros de diagnóstico clínico e laboratorial pela falta de atenção das  
 3 características específicas de cada agente, limitações na disponibilidade dos recursos de  
 4 diagnósticos e semelhança que as espécies compartilham entre si do ponto de vista  
 5 morfológico, clínico e epidemiológico.

6 Sendo assim todas as amostras de tecidos, provenientes de animais com diagnóstico  
 7 clínico e lesões compatíveis com paratuberculose foram negativas na RT-PCR. E o  
 8 sequenciamento genético revelou presença de DNA pertencente a bactérias do complexo *M.*  
 9 *tuberculosis* mostrando que é de fundamental importância o diagnóstico diferencial da  
 10 paratuberculose bovina utilizando todos os recursos disponíveis, sejam eles clínicos,  
 11 epidemiológicos ou laboratoriais.

## 12 REFERÊNCIA

- 13  
 14 Behr M.A.&Collins D.M. 2010. Paratuberculosis: organism, disease, control. CABI,Oxfordshire.  
 15 375p.
- 16 Cocito C., Gilot P., Coene M., Kesel M., Poupart P. &Vannuffel P. 1994. Paratuberculosis. Clin.  
 17 Microbiol. Rev. 7(3):328-345.
- 18 Chiodini R.J. &Rossiter C.A. 1996. Paratuberculosis:a potencialzoonosis. Vet. Clin. North Am. Food  
 19 An. Pract. 12(2):457-467.
- 20 Clarke C.J. 1997. The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species:  
 21 A review. J. Comp. Pathol. 116(3):217-261.
- 22 Dalto A.C., Bandarra P.M., Pavarini S.P., Boabaid F.M., Bitencourt A.P., Gomes M.P., Chies  
 23 J., Driemeier D.& Cruz C.E. 2012. Clinical and pathological insights into Johne' s disease in  
 24 buffaloes. Trop.Anim. Health Prod. 44(8):1899-1904.
- 25 Driemeier D., Cruz C.E.F., Gomes M.J.P., Cordellini G.L., Loretto A.P &Colodel E.M. 1999. Aspectos  
 26 clínicos e patológicos da paratuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras.  
 27 19(3/4):109-115.
- 28 EnglundS., BolskeG.&Johansson K. 2002. An IS900-like sequence found in a *Mycobacterium sp.*  
 29 other than *Mycobacterium avium*subsp. *paratuberculosis*. Microbiol.Letters 209:267-271.
- 30 Huda A. &Jensen H.E. 2003.Comparison of histopathology, cultivation of tissues and rectal contents,  
 31 and interferon-gama and serum antibody responses for the diagnosis of bovine paratuberculosis.J.  
 32 Comp. Path. 129:259- 267
- 33 Ireng L.M., Walravens K., Govaerts M., Godfroid J., Rosseels V., Huygen K. & Gala J.L. 2009.  
 34 Development and validation of a triplex real-time PCR for rapid detection and specific

- 1 identification of *M. avium* sub sp. paratuberculosis in faecal samples. *Vet. Microbiol.* 136(1-2):166-  
2 72.
- 3 Kreeger, J.M. 1991. Ruminant paratuberculosis - a century of progress and frustration. *J. Vet. Diagn.*  
4 *Invest.* 3(4):373-383.
- 5 Merkal R.S., Whipple D.L., Sacks J.M. & Snyder G.R. 1987. Prevalence of *Mycobacterium*  
6 *paratuberculosis* in ileocecal lymph nodes of cattle culled in the United States. *J. Am. Vet. Med.*  
7 *Assoc.* 190:676-680.
- 8 Miller J.M., Jenny A.L. & Payeur J.B. 2002. Polymerase chain reaction detection of *Mycobacterium*  
9 *tuberculosis* complex and *Mycobacterium avium* organisms in formalin-fixed tissues from culture -  
10 negative ruminants. *Vet. Microbiol.* 87:15-23.
- 11 Mota R.A., Pinheiro Junior J.W., Gomes M.J.P., Peixoto R.M., Maia F.C.L., Brito M.F., Chies J.A.B.,  
12 Snel G.G.M., Bercht B.S. & Juffo G.D. 2007. Paratuberculose em um rebanho bovino leiteiro no  
13 estado de Pernambuco. *Arq. Inst. Biol.* 74(2):73-79.
- 14 Mota P., Mota P.C., Pires P.S., Assis R.A., Salvarani F.M., Leite R.M.H., Dias L.D., Leite R.C.,  
15 Lobato F.C.F., Guedes R.M.C. & Lage A.P. 2009. Paratuberculose em um rebanho Gir leiteiro no  
16 Estado da Paraíba Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 29(9):703-706.
- 17 O'Reilly L.M. & Daborn C.J. 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and  
18 man: a review. *Tuber. Lung Dis.* 76(1):1-46.
- 19 Poupart P., Coene M., Heuverswyn H.V. & Cocito C. 1993. Preparation of a specific RNA probe for  
20 detection of *Mycobacterium paratuberculosis* and diagnosis of Johne's disease. *J. Clin.*  
21 *Microbiol.* 31(6):1501-1505.
- 22 Pritchard D.G. 1988. A century of bovine tuberculosis 1888-1988: conquest and controversy. *J. f*  
23 *Comp. Pathol.* 99:357-399.
- 24 Rajeev S., Zhang Y., Sreevatsan S., Motiwala A.S. & Byrum B. 2005. Evaluation of multiple genomic  
25 targets for identification and confirmation of *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*  
26 isolated using real-time PCR. *Vet. Microbiol.* 105:215-221.
- 27 Rawther S.S., Saseendranath M.R., Nair G.P., Tresamol P.V., Pillai U.N., Abraham J., Senthilkumar  
28 T.M., Nagalakshmy S. & Nimisha K.K. 2012. Diagnosis of paratuberculosis in goats by cell  
29 mediated immune response, conventional and molecular diagnostic techniques. *Trop. Anim. Health*  
30 *Prod.* 44(4):911-914.
- 31 Ristow P., Silva M.G., Fonseca L.S. & Lilenbaum W. 2006. Evaluation of *Mycobacterium avium*  
32 subsp. paratuberculosis faecal culture protocols and media. *Pesq. Vet. Bras.* 26(1):1-4.
- 33 Sales M.L., Sales E.B., Alencar A.P., Pereira O.T.V. & Fonseca Junior A.A. 2013. Desenvolvimento de  
34 uma PCR em tempo real para diagnóstico de *Mycobacterium avium* subespécie *paratuberculosis*.  
35 *Rev. Acad. Cienc. Agrar. Ambient.* 11(1):97-104.
- 36 Sambrook J. & Russell D.W. 2012. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 4th. ed. Cold Spring Harbor  
37 Laboratory Press, New York. 2028p.

- 1 Secott T.E., Lin T.L. &Wiu C.C. 2002. Fibronectin attachment protein is necessary for efficient  
2 attachment and invasion of epithelial cells by *Mycobacterium avium*subsp. *paratuberculosis*.  
3 Infect. Immun. 70(5):2670-2675.
- 4 Streeter R.N., Hoffsis G.F., Bech-Nielsen S., Shulaw W.P. & Rings D.M., 1995.Isolation of  
5 *Mycobacterium paratuberculosis*from colostrum and milk of subclinically infected cows. Am. J.  
6 Vet. Res. 56(10):1322-1324.
- 7 Telenti A., Marchesi F., Balz M., Bally F., Böttger E.C. &Bodmer T. 1993.Rapid identification of  
8 mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme  
9 analysis.J.Clin. Microbiol. 31(2):175-8.
- 10 Tripathi B.N., Periasamy S., Paliwal O.P. & Singh N.2006. Comparison of IS900 tissue PCR, bacterial  
11 culture, johnin and serological tests for diagnosis of naturally occurring paratuberculosis in goats.  
12 Vet. Microbiol.116(1-3):129-137.
- 13 Zanini M.S. 2002. Polimorfismo de DNA em *Mycobacterium bovis* e sensibilidade à isoniazida no  
14 Brasil.Tese de Doutorado em Ciência Animal, Escola de Veterinária, Universidade Federal de  
15 Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 59p.
- 16 Yamasaki, E.M., Tokarnia C.H., Galvão A., Gomes M.J.P., Chies J.A.B., Veit T.D., Aragão A.P. &  
17 Brito M.F. 2010.Aspectos clínicos-patológicos e controle da paratuberculose em rebanho bovino  
18 leiteiro. Pesq. Vet. Bras. 30(11):921-932.
- 19 Whittington R.J., Reddacliff I., Marsh I.& Saunders V. 1999.Detection of *Mycobacterium*  
20 *avium*subsp*paratuberculosis*in formalin-fixed paraffin-embedded intestinal tissue by IS900  
21 polymerase chain reaction.Aust. Vet.J.77(6):392-397.
- 22 Whittington R.J. & Sergeant E.S. 2001.Progress towards understanding the spread, detection and  
23 control of *Mycobacterium avium*subsp*paratuberculosis*in animal populations.Aust. Vet. J.  
24 79(4):267-278.

25

26

27

28

## 1    Legenda das Figuras

2

3    Fig. 1. Material coletado durante a necropsia no rebanho C. A) Jejuno espessado com aspecto  
4    enrugado e mucosa hemorrágica. B) Linfonodos mesentéricos aumentados de volume. C)  
5    superfície de corte dos linfonodos mesentéricos apresentando áreas esbranquiçadas (seta).

6

7    Fig. 2. Material coletado durante a necropsia no rebanho D. A) Jejuno com infiltração de  
8    macrófagos, células gigantes e linfócitos (HE, Obj. 40). B) Numerosos macrófagos repletos  
9    de bacilos ácido-alcool resistentes. (Coloração de Ziehl-Neelsen, Obj. 40).

10



11

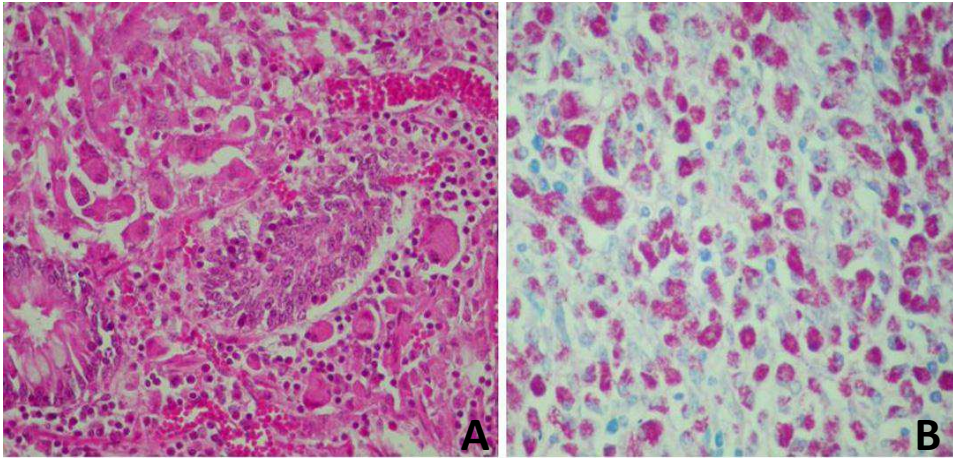
12    **Figura 1**

13

14

15

1



2

**Figura 2**

3

4

5

6

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21

**CAPÍTULO III**

**Epidemiologia da paratuberculose em pequenos ruminantes**

Artigo de revisão submetido ao periódico *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo – SP,  
Qualis B3

## Epidemiologia da paratuberculose em pequenos ruminantes

Theonys Diógenes Freitas, Sergio Santos Azevedo, Clebert Jose Alves\*

**RESUMO:** A paratuberculose (doença de Johne) é uma doença crônica granulomatosa, causada pelo *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* (*Map*) caracterizada por enterite crônica e perda de peso nos pequenos ruminantes. As principais perdas econômicas decorrentes da presença da paratuberculose são redução da eficiência alimentar, diminuição da produção láctea, diminuição da gordura e proteína do leite, redução do peso de abate, diminuição da fertilidade e aumento na incidência de mastite. O potencial zoonótico da doença não está completamente esclarecido. Sabe-se que 10% dos animais na fase subclínica eliminam o bacilo no leite. Podendo este resistir á pasteurização e ser uma importante via de transmissão para as populações humanas. O que indica a necessidade de estudos específicos posteriores com o intuito de determinar a sua real participação nos problemas relacionados à população de pequenos ruminantes em cada país e a possibilidade de risco zoonótico.

**Palavras Chaves:** Paratuberculose, pequenos ruminantes, epidemiologia, revisão.

**ABSTRACT:** The paratuberculosis (Johne's disease) is a chronic granulomatous disease caused by *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* (*Map*) characterized by chronic enteritis and weight loss in small ruminants. Is listed as a major economic losses arising from the presence of Paratuberculosis: reduced feed efficiency, decreased milk production, decreased fat and milk protein, reduction of body weight, decreased fertility and increased incidence of mastitis .The zoonotic potential the disease is not completely understood. It is known that 10% of animals with subclinical phase eliminate bacilli in milk. This can withstand pasteurization and be an important route of transmission to human populations. This indicates the need for further specific studies in order to determine their actual participation in issues related to small ruminant population in each country and the possibility of zoonotic risk to the human population.

**Key words:** Paratuberculosis, small ruminants, epidemiology, review.

## 1 **Introdução**

2

3 A paratuberculose (doença de Johne) é uma doença crônica granulomatosa, causada pelo  
4 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) caracterizada por enterite crônica e  
5 perda de peso nos pequenos ruminantes (BAUMAN, 2013). A doença foi descrita  
6 inicialmente em bovinos por JOHNE; FROTHINGHAM (1895), em ovinos (STOCKMAN,  
7 1911) e em cabras (TWORT, 1912). Atualmente apresenta-se distribuída na Europa, Ásia,  
8 África e Oceania. Nas Américas a doença em pequenos ruminantes tem sido descrita nos  
9 EUA, México, Argentina, Canadá, Chile e Brasil (KRUZE et al., 2006; OLIVEIRA et  
10 al.,2010; PITHUA; KOLLIAS 2012; BAUMAN, 2013; MÉNDEZ OLVERA et al., 2013;  
11 TRAVERIA et al., 2013). No Brasil, POESTER; RAMOS (1994) reproduziram a  
12 paratuberculose em caprinose e no estado da Paraíba. As principais perdas econômicas  
13 decorrentes da presença da paratuberculose nos rebanhos são redução da eficiência alimentar,  
14 diminuição da produção láctea, diminuição da gordura e proteína do leite, redução do peso de  
15 abate, diminuição da fertilidade e aumento na incidência de mastite (NIELSEN, 2011).

16 O potencial zoonótico da doença não está completamente esclarecido. Sabe-se que  
17 10% dos animais na fase subclínica eliminam o bacilo no leite, o qual pode resistir a  
18 pasteurização podendo ser uma importante via de transmissão para as populações humanas. O  
19 *Map* parece estar relacionado à etiologia da doença de Chron como seu agente causal, ou um  
20 dos fatores da síndrome multi etiológica. *Map* foi isolado em 70% dos pacientes com a  
21 doença de Chron o que poderia indicar seu papel pertinente nesta infecção (HERMON, 2000;  
22 COUSSENS, 2004; SHIN et al., 2004).

## 23 **Avaliação Econômica**

24

25 A paratuberculose é uma doença que apresenta distribuição mundial (STABEL, 2007),  
26 acredita-se que represente perdas estimadas de US\$ 200 milhões só nos EUA (OTT et  
27 al.,1999) sendo uma das doenças de grande importância na produção animal (HASONOVA,  
28 2006). Relatos apontam para o aumento da incidência nos últimos 10 anos, sugere-se que



1 esses números sejam bem maiores (STABEL, 2007). As perdas econômicas provocadas por  
2 *Map* são bastante consideráveis tanto nos países desenvolvidos quanto nos países em  
3 desenvolvimento. A maior parte das perdas ocorrem devido à fase subclínica da doença, na  
4 forma de perda de peso progressiva, redução da produção de leite, menor valor abate e  
5 redução da fertilidade. No Reino Unido, as perdas econômicas em rebanhos de ovinos  
6 infectados com paratuberculose podem variar de 24 £ -94 £ por ovelha (CALDOW; GUNN,  
7 2000).

8 Em recente trabalho realizado por MALONE et al., (2013) com infecção  
9 experimental por *Map* para avaliar o ganho de peso de em caprinos observou que as cabras  
10 com doença de Johne tem um ganho de peso reduzido quando comparado com cabras  
11 saudáveis da mesma idade. Estudos com a espécie ovina revelou que a doença provoca  
12 também redução na produção de leite, e o abate precoce dos animais positivos acarreta gastos  
13 significativos, determinando prejuízos aos produtores. Outros custos adicionais com o passar  
14 do tempo diz respeito a utilização de teste de diagnóstico e implementação de programas de  
15 controle (MCKENNA et al, 2006 ; JUSTE; PEREZ, 2011).

16 Em ovelhas da raça Merino a infecção subclínica não parece afetar a produção de lã  
17 mas pode ocorrer a redução do peso a medida em que a sorologia torna-se positiva  
18 (CHAITAWEE SUB et al., 1999). Na Espanha ovelhas com resultados positivos para ELISA  
19 produziram menos leite por lactação do que ovelhas negativas (ADURIZ; OCARIS, 1995).  
20 Segundo KENNEDY ; BENEDICTUS (2001) em ovinos pode ocorrer perda de lã durante a  
21 fase de crescimento e em cabras uma redução na produção de leite e diminuição da fertilidade.

## 22 **Caráter Zoonótico**

23

24 A doença de Chron é uma doença sistêmica cuja principal manifestação clínica-patológica é a  
25 inflamação crônica do intestino caracterizada por perda de peso, dor abdominal, diarreia e  
26 mal-estar. Seu pico inicial é no final da adolescência para a vida adulta, com um pico  
27 secundário em idosos (CHIODINI, 1989). A incidência da doença tem aumentado  
28 progressivamente nos últimos 40 anos com  $5 \pm 11$  casos por 100.000 habitantes, na maioria  
29 dos países desenvolvidos incluindo os EUA (CALKINS et al., 1984; FIDLER, et al., 1994).  
30 Estima-se que 500 mil pessoas sejam portadoras da doença de Chron nos EUA com aumento  
31 de 68,4 pacientes por dia e cerca de 25.000 novos casos cada ano. Em 1901, o médico escocês  
32 T. Kennedy Dalziel notou as semelhanças histológicas entre a doença de Johne e

1 enterite crônica de um paciente (AYELE et al., 2001) e o primeiro relatório ocorreu em 1913  
2 ( DALZIEL, 1913). Porém a ausência bacilos álcool ácido-resistentes (BAAR) em cortes  
3 histológicos impediu-o de chegar à conclusão de que as doenças eram causadas pelo mesmo  
4 agente etiológico( AYELE et al., 2001).

5 O tratamento com drogas imunossupressoras e a remoção cirúrgica da porção afectada  
6 do intestino são usados para controlar sintomas da doença de Chron , mas no momento não há  
7 cura para esta doença. Geralmente os pacientes vivem com uma dor crônica ao longo de suas  
8 vidas. A etiologia é misteriosa e controversa, embora sugere-se que os pacientes são um  
9 grupo heterogêneo e a etiologia podem não ser a mesma para todos os pacientes, podendo  
10 ocorrer também uma predisposição genética (NASER et al., 2004).

11 Alguns trabalhos atuais sugerem que a mutação em um gene no cromossoma 16,  
12 conhecido como NOD2/CARD 15 estão associados com a doença de Chron (HAMPE et al.,  
13 2001; HUGO et al. 2001; OGURA et al., 2001). *Map* tem a atenção como agente causador da  
14 doença de Johne devido aos sinais clínicos, similaridade patológica e também devido ao  
15 frequente isolamento (SECHI, et al., 2005). *Map* foi isolado do leite de lactantes e do sangue  
16 de pacientes com doença de chron , indicando que a infecção é sistêmica como a  
17 paratuberculose o que poderia indicar seu papel pertinente nesta infecção(HERMON, 2000;  
18 COUSSENS, 2004; NASER et al., 2004; SHIN et al., 2004).

19 O primeiro estudo que indicou a presença do *Map* no leite pasteurizado  
20 comercialmente foi realizado no Reino Unido no qual 1,8 % das amostras forma positivas  
21 para a cultura de *Map* (GRANT, et al., 2002), desde então outros países também relataram o  
22 isolamento a partir de produtos lácteos entre eles cita-se a República da Irlanda, Austrália,  
23 Índia e Canadá (GAO et al., 2002; O' REILLY et al., 2004; MCDONALD, et al., 2005;  
24 SHANKAR et al., 2009). Sugerindo que o consumo de leite e de produtos não- pasteurizado  
25 ou pasteurizado pode ser uma importante via de transmissão de *Map* para população  
26 humana.

27 Poucos são os estudos que tratam da possibilidade de transmissão através de derivados  
28 cárneos apesar do frequente isolamento do *Map* em tecidos como intestino, linfonodos  
29 mesentéricos, tetas e úberes (KUMAR et al., 2007; VOHRA et al., 2007; YADAV et al.,  
30 2008). ROSSITER; HENNING (2011) sugerem que a carne de vacas leiteiras velhas, usadas

1 para fazer carne moída para consumo humano pode representar uma via de transmissão  
2 cruzada para os consumidores. Assim como a carne também pode sofrer contaminação com  
3 material fecal durante o abate e processamento. Sugerindo que a eliminação do *Map* através  
4 das fezes de animais e o descarte inadequado de carcaças e excremento humano podem  
5 favorecer a contaminação dos recursos hídricos destinados ao consumo humano assim como  
6 a manutenção do agente no ambiente (HERMON-TAYLOR, 2001; VERMAN, 2013).

7 O potencial zoonótico da doença não está completamente esclarecido, uma recente  
8 revisão indicou que não havia provas suficientes para apoiar um nexo de causalidade entre a  
9 doença de Crohn e *Map* (WADDELL et al., 2008). Porém para alguns autores há provas  
10 suficientes para justificar a aplicação do princípio da precaução e incentivar a redução de *Map*  
11 em animais produtores de alimentos ( FELLER et al., 2007; BEHR; KAPUR , 2008).

## 12 **Etiopatogenia**

13

14 *Mycobacterium avium* subespécie *paratuberculosis*, pertence à família Mycobacteriaceae.  
15 Sendo estes bastonetes aeróbicos, imóveis, catalase positiva, Gram positivos, intracelular  
16 facultativo de 1-2 mm de comprimento e 0,5mm de largura comprimento (VERMAN, 2013;  
17 BANNANTINE; STABEL, 2002) que preferencialmente se replicam dentro dos macrófagos  
18 sendo esta uma das características que faz a infecção pelo *Map* geralmente intratável que é  
19 inacessível para muitos fármacos antimicobacterianos (COCITO et al., 1994).

20 Em meios de cultura sólidos apresenta-se como colônias rugosas não pigmentadas, de  
21 crescimento lento podendo exigir até quatro meses para a formação de colônias visíveis  
22 necessitando da presença da micobactina para seu desenvolvimento *in vitro* (LAMBRECHT;  
23 COLLINS, 1992; KAZDA et al., 2009;). Os bacilos possuem uma membrana celular externa  
24 e a parede celular é muito grossa, cerosa e hidrófoba devido ao seu elevado teor de ácidos  
25 micólicos (GANGADHARAM E JENKINS, 1998). Esta parede celular é uma das principais  
26 razões para a dificuldade na eliminação de infecções provocadas pelo *Map* assim como a  
27 característica de sobreviver durante um longo período de tempo (3-24 meses ) no solo ou na  
28 água e resistência a produtos químicos como cloro e processos físicos como a pasteurização  
29 (GRANT et al., 1998).

30 Os solos ácidos (pH baixo) favorecem sua manutenção no ambiente ao passo que solos  
31 alcalinos (pH elevado) inibe a sua proliferação (WHITTINGTON et al., 2005;

1 MOROVKOVA et al , 2012). Evidências recentes comprovam a antiga crença de que *Map*  
2 também pode ter um morfotipo esporulado o que poderia explicar sua capacidade de persistir  
3 em condições ambientais adversas (LAMONT et al., 2012).

4 Utilizando a análise de endonuclease de restrição e hibridização de DNA, foram  
5 detectados duas cepas de *Map* que são diferentes genotipicamente, a primeira estirpe C isolado  
6 a partir de amostras de bovinos e uma estirpe S provenientes de ovinos. No entanto, uma cepa  
7 intermediária foi posteriormente identificada e chamada de estirpe "intermediário"  
8 (COLLINS et al. , 1990). Estas estirpes foram renomeadas tipo I (S -strain) e tipo II (C-  
9 tensão ), (STEVENSON et al., 2002). A estirpe intermediária foi finalmente conhecida como  
10 tipo III (JUAN et al.,2005; MOEBIUS et al., 2009), este grupo é considerado um subtipo do  
11 *Map* I sendo composto por bactérias não pigmentadas (STEVENSON et al., 2009). O Tipo III  
12 raramente foi isolado e os isolados disponíveis foram obtidos a partir de amostras de ovelhas  
13 no Canadá, África do Sul, Islândia, (COLLINS et al., 1990; DE LISLE et al., 1992; DE  
14 LISLE et al., 1993), e caprinos e bovinos taurinos de amostras provenientes da Espanha  
15 (JUAN et al, 2005 ;CASTELLANOS et al, 2009). No Brasil não há relatos quando a  
16 classificação das cepas isoladas.

17 A principal forma de transmissão é fecal-oral pela ingestão de alimento ou água  
18 contaminada por fezes de animais que eliminam o microrganismo sendo esta a principal via  
19 de infecção em caprinos e ovinos(STEHMAN; SHULAW, 2002), também pode ocorrer  
20 através do colostro, leite, infecção intra-uterina (STREETER et al., 1995) ou por meio de  
21 contato direto com animais infectados (WHITTINGTON; SARGENTO, 2001). Ingeridas as  
22 bactérias, as mesmas são transportadas através do epitélio intestinal, principalmente, através  
23 de células M nas placas de Peyer no íleo e jejuno (MOMOTANI et al., 1988;  
24 SIGUROARDOTTIR et al., 2005). Esta absorção pode ser aumentada pela presença de  
25 anticorpos materno ou por meio de opsonização na presença de soro (SECOTT et al., 2002).  
26 Uma vez que as bactérias são transportados através da célula H no lúmen e fagocitadas por  
27 macrófagos sub - epiteliais e células dendríticas, ocorrendo sobrevivência intracelular de *Map*  
28 dentro de macrófagos sendo essa a chave para a sua patogenicidade (HOSTETTER et al.,  
29 2003). O sistema imunitário tenta se defender das bactérias viáveis através da infiltração de  
30 células inflamatórias e a formação de granulomas. Inicialmente, estes granulomas estão  
31 localizados próximos aos pontos de entrada. No entanto, as bactérias e os macrófagos

1 infectados podem migrar localmente no tecido sub epitelial através de vasos linfáticos para os  
2 nódulos linfáticos mesentéricos e através da corrente sanguínea, onde pode disseminar para  
3 outros órgãos e tecido muscular (SMITH et al., 2011).

4 As alterações histopatológicas são classificadas em duas categorias: Paucibacilar e  
5 multibacilar. A forma paucibacilar ou tuberculóide é caracterizada por reação linfocítica com  
6 poucos ou nenhuma bactéria ácido-resistente. Por outro lado, a forma multibacilar ou  
7 virchowiana é caracterizada por um grande número de macrófagos e células epitelióides em  
8 conjunto com grande números de bactérias ácido-resistente (CLARKE; LITTLE, 1996;  
9 CLARKE, 1997). A forma multibacilar representa o estado mais grave e é quase sempre  
10 associada com doença clínica associada com uma forte resposta imune humoral e uma baixa  
11 imunidade celular, sendo considerada irreversível com uma alta eliminação do *Map* através  
12 das fezes (REDDACLIFF et al., 2010; KAWAJI et al., 2011). No entanto, casos clínicos  
13 também foram relatados a partir de animais com uma forma paucibacilar (DENNIS et al.,  
14 2011). O tecido intestinal e sub epiteliais são constantemente infiltrados com células  
15 inflamatórias ocasionando o aumento do número e tamanho dos granulomas formados  
16 danificando a integridade luminal. Da mesma forma a inflamação inibe a capacidade do  
17 intestino de absorver nutrientes causando uma hipoproteinemia e desnutrição (COCITO et al.,  
18 1994; SECOTT et al., 2002).

19 Os ovinos e caprinos jovens são mais susceptíveis contudo os animais adultos podem  
20 ainda ser infectados porém se faz necessário doses mais altas de bactérias e o período de  
21 incubação é mais longo .Em ovinos e caprinos a doença clínica geralmente se manifesta em  
22 animais acima de um ano de idade, manifestando-se principalmente por emaciação  
23 progressiva. Em ambas as espécies, a diarréia não é grave ou está ausente, um aspecto  
24 diferente dos bovinos nos quais a diarréia é um sinal clínico característico (KUMAR et al.,  
25 2007; SINGH et al., 2007).

## 26 **Situação Epidemiológica Atual**

27

28 Paratuberculose em caprinos e ovinos tem sido documentado em diversas partes do mundo,  
29 incluindo o Brasil (OLIVEIRA et al., 2010), ainda pouco se sabe sobre a prevalência global  
30 nestas espécies (KOSTOULAS et al., 2006; NIELSEN; TOFT, 2009; PITHUA; KOLLIAS,  
31 2012). A prevalência da infecção é difícil de estimar devido à falta de estudos  
32 epidemiológicos e a padronização de testes em pequenos ruminantes naturalmente infectados.

1 Porém vários trabalhos isolados tem sido publicado por diversos autores que na grande  
 2 maioria das vezes os desenhos epidemiológicos não tem sido conduzidos de forma que possa  
 3 estimar a real prevalência da doença, um levantamento bibliográfico das publicações sobre  
 4 prevalência em caprinos e ovinos entre os anos de 2000 a 2013 estão apresentados na Tabela  
 5 1.

6 A maioria das pesquisas sobre paratuberculose em ovinos até o momento envolve  
 7 animais de carne e estudos limitados foram realizados em ovelhas com produção látea  
 8 (WHITTINGTON et al., 2000; GUMBER et al, 2006 ; KOSTOULAS et al., 2006; ROBBE-  
 9 AUSTERMAN et al., 2011). Um estudo realizado em um abatedouro de ovelhas em Quebec ,  
 10 no Canadá estimou uma prevalência de 3% (ARSENAULT et al., 2003). Este valor é  
 11 provavelmente uma sub-representação da prevalência uma vez quemuitos casos da doença  
 12 clínica podem ter sido removidos durante a inspeção ante-mortem ou morreram na  
 13 exploração.

14 **Tabela 1- Levantamento bibliográfico sobre prevalência em caprinos e ovinos entre os anos de**  
 15 **2000 a 2013.**

<b>Espécie</b>	<b>País</b>	<b>Ano</b>	<b>Prevalência (%)</b>	<b>Autores</b>
Caprino/Ovino	Eslovênia	2000	3,5	(OCEPEK et al., 2002)
Ovino	Croácia	2001	0,6	(CVETNIC, 2002)
Caprino	Croácia	2001	0,0	
Ovino	Iran	2002	0,9	(HAJI, 2002)
Caprino	Iran	2002	1,4	
Caprino	Noruega	2002	1,1	(MORK et al., 2003)
Ovino	Noruega	2002	0,3	
Ovino	Austrália	2002	2,4	(SERGEANT; BALDOCK 2002)
Ovino	Canadá	2003	3,0	(ARSENAULT, et al., 2003)
Caprino/Ovino	Portugal	2004	1,0-8,9	(MENDES et al., 2004)
Caprinos	Coréia	2006	4,6-38,2	(LEE 2006)
Ovino	Índia	2007	2,2	(KUMAR; TRIPATHI 2007)
Ovino	Portugal	2007	6,4	(COELHO et al., 2007)
Ovino	Jordânia	2008	22,1	(AHMAD M. AL- MAJOLI, 2008)
Caprino	Jordânia	2008	18,1	
Ovino	Portugal	2008	6,4-15,4	(COELHO et al., 2008)
Ovino	Índia	2008	11,6	(TRIPATHI et al., 2007)
Caprino	Índia	2008	4,0	
Caprino	Brasil	2010	44,86	(OLIVEIRA et al., 2010)
Ovino	Brasil	2010	52,96	
Caprino	Índia	2010	57,1	(SINGH, 2010)
Caprino	França	2010	2,9-6,0	(MERCIER, 2010)
Ovino	Itália	2011	6,29	(ATTILI et al., 2011)
Caprino	EUA	2012	1,9	(PITHUA; KOLLIAS 2012)
Caprino/Ovino	Alemanha	2012	15,0	(STAU et al.,2012)
Caprino	Canadá	2013	79,3	(BAUMAN, 2013)
Ovino	Canadá	2013	57,1	(BAUMAN, 2013)

---

Ovino	Nova Zelândia	2013	75,5	(VERDUGO, 2013)
-------	---------------	------	------	-----------------

---

1 De acordo com WHITLOCK; BUERGELT (1996), para cada caso clínico detectado,  
2 até mais 25 animais da mesma fazenda podem estar infectados. Em um estudo de revisão  
3 sobre a prevalência de *Map* em rebanhos caprinos e ovino na Europa os autores afirmam que  
4 não existem dados com estimativas de prevalência precisas e imparciais entre os pequenos  
5 ruminates neste continente embora o diagnóstico tenha sido realizado em rebanhos caprinos e  
6 ovinos em diversos países (NIELSEN; TOFT, 2009). O maior estudo realizado neste  
7 continente foi realizado na Eslovénia onde 12.578 ovinos e caprinos foram testados e 440  
8 (3,5%) foram considerados positivos (OCEPEK et al., 2002). Recentemente na Alemanha  
9 STAU et al. (2012) em um estudo sobre a situação epidemiológica de *Map*, revelou uma  
10 soroprevalência de 15% em animais e 65% em rebanho.

11 Embora a doença tenha uma descrição de distribuição mundial é difícil afirmar se  
12 todos os países do mundo devem ter alguma preocupação com esta doença em seu rebanho  
13 (OKUNI, 2008). No continente Africano COLLINS; MANNING (1997) relatou que havia  
14 informações de apenas 6 dos 12 países do continente. MICHEL; BASTIANELLO (2000)  
15 publicou um artigo em que paratuberculose ovina foi descrita como uma doença emergente na  
16 África do Sul com uma prevalência significativa no leste e oeste da cidade do Cabo, Estado  
17 Livre de Orange e Mpumalanga, do mesmo modo, ARADAIB et al. (2005) relataram a  
18 ocorrência do *Map* em uma cabra Anglo Nubiana. Estudos recentes indicam que a doença está  
19 presente em pequenos ruminates em algumas áreas do Sudão sendo *Map* reconhecido como  
20 um problema emergente em ovinos na África do Sul enquanto estudos de frequência da  
21 doença tem sido documentado em Camarões, Uganda e Sudão (MOHAMMED et al., 2010;  
22 OKUNI et al., 2011; MOHAMMED; MOHAMMED, 2012).

23 Um estudo transversal realizado na Jordânia por AHMAD M. AL-MAJALI (2008)  
24 para investigar alguns aspectos epidemiológicos da paratuberculose em rebanhos de pequenos  
25 ruminantes localizados em duas províncias no sul da Jordânia totalizando 320 ovelhas e 300  
26 cabras em 38 e 24 propriedades respectivamente observou uma prevalência individual de  
27 paratuberculose em ovelhas de 22,1% e a nível de rebanho de 50%. Em cabras, a prevalência  
28 individual foi 18,1% e a nível de rebanho 45,8%, respectivamente. Na Líbia SHARIF et al.  
29 (2013) confirmaram o primeiro relato de *Map* em um rebanho de ovinos nesse país.

30 Na Austrália em 2002, a taxa média de mortalidade de ovinos foi estimada em 6,2%  
31 em 12 fazendas com uma variação (2,1-17,5%) e de 7,8% (variação de 1,8 para 14,6%) em

1 2003 (BUSH, 2006) . Na Índia estimou uma morbidade de 18,7% e mortalidade de 14% em  
2 cabras da região Norte do país (SINGH, 1992). Também na Índia em um período de 7 anos  
3 (1990-1997) um estudo revelou uma alta morbidade (27,1 - 75,1%) e mortalidade (8,1-19,1  
4 %) em cabras e uma morbidade (29,0 - 61,7 %) e mortalidade (4,6-24,8 %) em ovelhas (   
5 BHAGWAN, 1997).

6 Nos Estados Unidos PITHUA; KOLLIAS (2012) trabalhando com caprinos da raça  
7 Boer no estado do Missouri estimaram a prevalência animal, dentro de rebanho, entre rebanho  
8 em 1,4% (IC 95%= 0,1 a 3,6%), 3% (IC 95% =0 a 6%), e 54,7% (95% CI=28,2-86,2%),  
9 respectivamente. Confirmando que a infecção é endêmica por *Map* em rebanhos caprinos Boer  
10 nesse estado.

11 No Canadá BAUMAN (2013) em um estudo transversal em 29 rebanhos caprinos e 21  
12 rebanhos ovinos localizados em Ontário identificou a nível de rebanho uma prevalência  
13 aparente global de 79,3% em rebanhos de caprinos e 57,1 % em rebanhos ovinos utilizando  
14 testes de PCR/ ELISA e quando a cultura de fezes foi o padrão de referência a prevalência a  
15 nível de rebanho foi 83,0% e 66,8% em cada população respectivamente, indicando uma alta  
16 prevalência e a necessidade da implementação de um programa de controle de *Map* nessa  
17 região.

18 MÉNDEZ OLVERA et al. (2013) utilizando três métodos diferentes para a detecção do  
19 *Map* em cabras nos México revelaram que das 139 amostras analisadas , sete deles foram  
20 positivas por PCR, seis foram positivas pelo Ziehl-Neelsen e cinco amostras foram positivas  
21 para ELISA, sendo este o primeiro trabalho de relato da presença de *Map* no país.  
22 TRAVERIA et al. (2013) na Argentina identificaram genotipicamente pela primeira vez uma  
23 uma cepa ovelha (S) tensão utilizando IS900-PCR . A cepa S foi comparada com o Mao  
24 (C) usando linhagens IS1311 análise endonuclease PCR-restrição (PCR-REA), polimorfismo  
25 de fragmentos de PCR multiplex e de restrição (RFLP). No Chile, KRUZE et al. (2006)  
26 identificou pela primeira vez a o *Map* em um caprino leiteiro da raça Sannen com sinais  
27 clínicos característicos da forma paucibacilar confirmado a partir da bacteriologia, sorologia  
28 e PCR.

29 No Brasil dados a respeito do *Map* em pequenos ruminantes são escassos e as  
30 referências encontradas são na região sudeste no estado de São Paulo (JACINTHO et al.,  
31 2009) e na região nordeste no estado da Paraíba (OLIVEIRA et al., 2010). No estado da  
32 Paraíba utilizando o Elisa foi determinada a presença de anticorpos para *Map* em amostras de



1 soro de 734 caprinos e 392 ovinos, sem sinais clínicos aparentes, provenientes de 14  
2 municípios do semiárido Paraibano. Em caprinos, a frequência média de anticorpos de  $44,86 \pm$   
3  $22,91\%$  e em ovinos foi de  $52,96 \pm 31,49$ . Das 46 propriedades estudadas, 44 (95,65%)  
4 apresentaram pelo menos um animal soropositivo. Nos 14 municípios avaliados houve  
5 presença de animais sorologicamente positivos, variando de 20% a 70%. Por outro lado,  
6 FREITAS\* et al. (2014) trabalhando 727 fêmeas caprinas provenientes de 86 propriedades  
7 do município de Monteiro-PB, no período de março de 2009 a julho de 2011 utilizando testes  
8 de ELISA identificou que apenas 6 (0,82%) foram soropositivos no teste confirmatório após a  
9 triagem, e das 86 propriedades 6 (6,97%) apresentaram pelo menos um animal soropositivo.  
10 Nas propriedades positivas a frequência de animais reagentes variou de 5,26% a 16,60%. A  
11 variação de resultados encontrados na região estudada pode estar relacionada com a  
12 sensibilidade e especificidade dos testes utilizados na pesquisa. Indicando que outras  
13 ferramentas de diagnóstico com o isolamento e biologia molecular devem ser utilizadas para  
14 determinar a real participação de *Map* em caprinos e ovinos do país assim como a sua  
15 importância do ponto de vista sanitário e econômico nos rebanhos Brasileiros. Se fazendo  
16 necessários que trabalhos relacionados com a prevalência e incidência em pequenos  
17 ruminantes sejam realizados posteriormente.

#### 18 **Aspectos relevantes aos fatores de risco associados à presença do agente**

19

20 Em rebanhos caprinos e ovinos existe uma limitação muito importante dessas avaliações de  
21 risco devido a escassez de dados precisos, relevantes e comparáveis de prevalência em todos  
22 países (GARDNER et al., 2000; LAMMERDING; FAZIL, 2000). Porém, trabalhos isolados  
23 têm sido realizados a fim de identificar possíveis fatores de risco relacionados à ocorrência e  
24 manutenção do agente nos rebanhos que podem ser observados na Tabela 2 a partir do  
25 levantamento bibliográfico das publicações entre os anos de 2000 a 2013 relacionados aos  
26 fatores de risco em pequenos ruminantes.

27

28

29

---

\* FREITAS, T.D. Paratuberculose em ruminantes na região do semiárido Paraibano-Brasil. Parte do trabalho da tese a ser publicada.

1 Tabela 2- Levantamento bibliográfico dos possíveis fatores de risco relacionados à  
 2 ocorrência e manutenção do agente nos rebanhos.

<b>Pais</b>	<b>Espécie</b>	<b>Fator de Risco</b>	<b>Autor</b>
Austrália	Ovino	Aplicação de fertilizantes. Manejo do rebanho. Tipo de solo.	(TORIBIO; HITTINGTON 2005)
	Ovino	Criações em condições deficientes de higienização e limpeza. Altataxa de lotação durante o parto. Abate de ovinos baixo peso corporal. Partilha de estradas.	(DHAND et al., 2007)
Brasil	Caprino	Tipo de criação. Ausência de tecnificação.	(* FREITAS et al., 2014)
Canadá	Ovino	Deficiências em biossegurança. Gestão nas propriedades	(BAUMAN, 2013)
Espanha	Ovino/Caprino	Tamanho entre 200-400 animais. Presença de raças estrangeiras e seus cruzamentos. Taxas de substituição elevada.	MAINAR-JAIME E VAZQUEZ BOLAND 1998)
	Ovino	Baixo pH do solo.	(REVIRIEGO et al., 2000)
Jordânia	Ovino/caprino	Criação consorciada mista. Pastoreio nas áreas comuns. Adição de novos animais.	(AHMAD M. AL-MAJALI 2008)
Portugal		Animais de raça pura Tamanho de rebanho entre 31-60 animais. Abate durante a temporada de primavera-verão. Utilização de tratamento anti – parasitário somente com ivermectina. Uso de Albendazol com outro tratamento anti-parasitário e o uso de associações de Closantel e Mebendazol.	(COELHO et al., 2007)

3 \* FREITAS, T.D. Paratuberculose em ruminates na região do semiárido Paraibano-Brasil. Parte do trabalho da  
 4 tese a ser publicada.

5

6 Trabalho de pesquisa realizado por BAUMAN (2013) identificou a deficiência em  
 7 biossegurança e gestão nas propriedades como fatores de riscos em ovinos leiteiros no  
 8 Canadá. A biossegurança tem se destacado como um fator de risco para paratuberculose em  
 9 ovinos em outros estudos (REVIRIEGO et al., 2000; DHAND et al., 2010) sendo a chave  
 10 para muitos programas de controle de doenças infecciosas. Na Jordania, AHMAD M. AL-

1 MAJALI (2008) trabalhando com caprinos e ovinos e utilizando um modelo de regressão  
2 logística revelou que a criação consorciada mista, o pastoreio nas áreas comuns e a adição de  
3 novos animais foram identificados como fatores de risco.

4 Analisando o trabalho de COELHO et al. (2007) em Portugal, o mesmo, identificou os  
5 seguintes fatores de risco: animais de raça pura; tamanho de rebanho entre 31-60 cabeça; abate  
6 durante a temporada de primavera-verão; utilização de tratamento anti - parasitário , tais como  
7 ivermectina como o único medicamento anti - parasitário; uso de Albendazol com outro  
8 tratamento anti- parasitário e o uso de associações de Closantel e Mebendazol. Em contraste  
9 foram considerados fatores a proteção contra paratuberculose não espalhar esterco nos  
10 campos a serem utilizados para pastagem e impedir o acesso às áreas onde o estrume é  
11 armazenado .

12 Relatos de DHAND et al. (2007) na Austrália, informou que foi identificado os  
13 seguintes fatores de risco em ovinos: criações em condições deficientes de higienização e  
14 limpeza; alta taxa de lotação durante o parto, abate de ovinos baixo peso corporal , partilha de  
15 estradas entre fazendas vizinhas e alta frequência de aplicação de fertilizantes. Na região de  
16 Madri na Espanha MAINAR-JAIME; VAZQUEZ-BOLAND (1998) observaram que os  
17 rebanhos que apresentava tamanho entre 200-400 cabeça, a presença de raças estrangeiras e  
18 seus cruzamentos assim como as taxas de substituição elevada foram associadas ao *Map*. Em  
19 contrapartida, a adesão a uma associação de profissionais especializados foi apontado como  
20 um fator de proteção contra *Map*.

21 No Brasil FREITAS et al. (2014) em caprinos leiteiros na região semiárida do Estado  
22 da Paraíba utilizando 727 fêmeas caprinas provenientes de 86 propriedades identificaram:  
23 tipo de criação (recria e reprodução) e ausência de tecnificação como fatores de risco para  
24 manutenção de *Map* nos rebanhos. Há muitos fatores de risco associados com a propagação e  
25 persistência de *Map* em rebanhos bovinos. Estes fatores incluem: presença de um animal  
26 infectado dentro de um rebanho, condições climáticas úmidas , alta densidade, alimentação de  
27 bezerros, a acidez dos solos, entre outros fatores (MUSKENS et al., 2003). Muito pode ser  
28 aprendido e extrapolados a partir dos programas de controle de gado leiteiro , mas há  
29 diferenças importantes para os pequenos ruminantes que precisam ser considerados para  
30 maximizar a absorção e sucesso dessas estratégias.

31

32

## 1 **Controle da Paratuberculose em pequenos ruminantes**

2  
3 O controle da paratuberculose é um grande desafio devido as características relacionadas ao  
4 agente uma vez que o mesmo possui a capacidade de sobreviver durante um longo período  
5 de tempo mesmo sob condições ambientais extremas, assim como a sua capacidade para  
6 infectar hospedeiros de várias espécies (PICKUP et al., 2006) . Outro fator de que deve ser  
7 levado em consideração é a incapacidade dos testes de diagnóstico para detectar os animais  
8 com infecção subclínica.

9 As ações de controle estão correlacionadas com intervenções de gestão projetadas para  
10 limitar a introdução do agente no rebanho assim como a transmissão do patógeno (OTT et al.,  
11 1999; PENCE et al, 2003). As práticas de controle da paratuberculose em pequenos  
12 ruminantes atualmente estão divididas em três métodos: vacinação; teste e abate dos animais  
13 positivos e a implementação de práticas de gestão para reduzir a transmissão no rebanho e  
14 entre fazendas (BASTIDA; JUSTE, 2011).

15 Nos projetos de programa de controle devem ser levados em consideração os aspectos  
16 relacionados ao objetivo principal da fazenda (criação ou produção) e a prevalência da doença  
17 dentro da fazenda que irá ajudar a determinar se a erradicação ou controle será o método de  
18 escolha (COLLINS et al., 1994).

## 19 **Vacinação**

20  
21 A vacinação é uma alternativa ao problema de paratuberculose em todo o mundo, talvez,  
22 marcando a diferença entre não fazer nada e fazer progressos no sentido de controle da doença  
23 (JUSTE et al., 2009). A principal desvantagem da vacinação é que os animais vacinados não  
24 podem ser diferenciados dos animais infectados além disso pode ocorrer interferência com a  
25 sorologia da tuberculose. Porém segundo PEREZ DE VAL (2012) os efeitos da interferência  
26 da vacinação de paratuberculose em caprinos no diagnóstico da tuberculose pode ser  
27 minimizado com a utilização de novas tecnologias.

28 A vacinação em caprinos contra paratuberculose esta atualmente em uso na Espanha,  
29 Holanda, França, Noruega e Índia. Em 49 ensaios de vacinação em ovinos os efeitos positivos

1 foram observados em 94 % dos casos e nos caprinos os efeitos positivos foram de 92% dos  
2 casos relatados em 24 estudos (JUSTE; PEREZ , 2011). A estratégia de vacinação no controle  
3 da paratuberculose em pequenos ruminantes é considerada uma boa ferramenta de controle  
4 podendo prevenir os casos clínicos e portanto pode levar ao aumento da produção em uma  
5 relação altamente rentável do ponto de vista do custo benefício. Não há restrições quanto à  
6 vacinação em ovelhas, mas a possibilidade de interferências com diagnóstico de tuberculose  
7 deve ser levado em conta em caprinos (JUSTE; PEREZ, 2011).

8 Na Índia utilizando uma cepa local a vacinação reduziu significativamente a morbidade ,  
9 mortalidade, redução dos sinais clínicos e proporcionou uma maior imunidade em rebanhos  
10 caprinos e ovinos naturalmente infectado em áreas endêmicas (SINGH et al., 2007; 2010;  
11 2011; 2013, SHROFF et al., 2013). Portanto a vacina desenvolvida nesse país contra a doença  
12 de Johne apresenta tanto caráter terapêutico como preventivo e uso rotineiro pode reduzir a  
13 carga global da doença.

#### 14 **Práticas de Gestão nas Propriedades**

15

16 As intervenções relacionadas às práticas de gestão têm como objetivo diminuir a possibilidade  
17 de contato dos animais jovens suscetíveis com o agente assim como a eliminação do *Map* no  
18 ambiente. Isso envolve a remoção de cordeiros e cabritos imediatamente após nascimento,  
19 alimentando com colostro tratado termicamente ou usar um produto de substituição de  
20 colostro com menor risco como um sucedâneo comercial. Isolar os animais de reposição do restante  
21 do rebanho e qualquer ambiente que podem ter sido contaminados com seu estrume, evitar a  
22 adubação de pastagens com esterco, melhoria nas condições de higiene das instalações e a  
23 eliminação de práticas que possam trazer alimentos ou materiais de outras fazendas. Além  
24 disso, a introdução de novos animais não deve ser negligenciada e o diagnóstico dos animais  
25 de reposição deve ser levado em consideração (MUSKENS et al., 2003; WHITTINGTON et  
26 al., 2005). Tais medidas não fornecem resultados imediatos e o maior benefício promovido  
27 por essas estratégias estão relacionados com a redução no risco de transmissão do agente.

## 1 **Teste e Abate dos Animais**

2

3 A estratégia de teste e abate dos animais no controle da paratuberculose em pequenos  
4 ruminantes esbarra na problemática da baixa sensibilidade e o alto custo para os produtores (  
5 BASTIDA; JUSTE, 2011). Os vários kits de ELISA para diagnóstico disponíveis no  
6 mercadotêm especificidade e sensibilidade variável (DIEGUEZ et al., 2009; SINGH et al.,  
7 2007) afectando seriamente os programas de controle. A Cultura fecal é considerada o teste  
8 mais sensível e o mais provável para detectar animais na fase precoce da doença, porém  
9 apresenta como desvantagens o alto custo e tempo de retorno longo assim como durante esse  
10 período o animal infectado continuará eliminado o agente no ambiente (ZIMMER et al., 1999;  
11 WHITLOCK et al., 2000).

12 Abate dos animais, baseado na utilização do PCR também foram testadas, porém  
13 parece ser uma ferramenta promissora. A cultura fecal foi recentemente substituída na  
14 Holanda por testes baseados em PCR para o controle da paratuberculose (BASTIDA;  
15 RAMON, 2011). A utilização do PCR a partir de fezes é crescente, no entanto apresenta  
16 como desvantagem a sua incapacidade para distinguir entre animais verdadeiramente  
17 infectados, os que recentemente ingeriram as bactéria (BEHR; COLLINS, 2010). Em nível de  
18 campo tanto PCR como ELISA ainda não tiveram sua eficiência comprovada nas estratégias  
19 de controle. Portanto a decisão de animais para abate sempre sofrem com suspeita de falso  
20 positivo e do falso negativo. O controle da doença e o seu processo é lento emuita às vezes se  
21 faz necessário que constantemente as medidas aplicadas sejam avaliadas e readaptadas de  
22 acordo com a realidade atual de cada rebanho.

## 23 **Considerações Finais**

24

25 A paratuberculose atualmente esta presente em diversas regiões do mundo nos rebanhos  
26 caprinos e ovinos com variações significativas do ponto de vista epidemiológico tanto no que  
27 se diz respeito a sua participação nas perdas econômicas assim como sua importância de  
28 caráter zoonótico nessas espécies. O que indica a necessidade de estudos específicos  
29 posteriores com o intuito de determinar a sua real participação nos problemas relacionados a  
30 população de pequenos ruminantes em cada país.

## 1 REFERÊNCIAS

2

3 ADURIZ J.J., JUSTE R.A. & DE OCARIZ S. (1995). - Anepidemiological study of sheep  
4 paratuberculosis in the Basque Country of Spain; serology and productive data. *In Proc. 4th*  
5 *International Colloquium on paratuberculosis* (R.J. Chiodini, M.T. Collins & E.O.E. Bassey, eds),17-  
6 21 July 1994, Cambridge. **International Association for Paratuberculosis**, Madison, Wisconsin, 19-  
7 26.

8 AL-MAJALI, AHMAD M.; JAWASREH, KHALEEL; NSOUR, AMER AL. Epidemiological studies  
9 on foot and mouth disease and paratuberculosis in small ruminants in Tafelah and Ma'an, Jordan.  
10 **Small Ruminant Research**, v. 78, n. 1, p. 197-201, 2008.

11

12 ARADAIB, I. E. et al. Evaluation of conventional methods and nested PCR (nPCR) for detection of  
13 paratuberculosis in goats. **Veterinary research communications**, v. 29, n. 5, p. 381-385, 2005.

14

15 ARSENAULT, Julie et al. Prevalence of and carcass condemnation from maedi-visna,  
16 paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada. **Preventive**  
17 **veterinary medicine**, v. 59, n. 1, p. 67-81, 2003.

18

19 ATTILI, A. R. et al. "Ovine paratuberculosis: a seroprevalence study in dairy flocks reared in the  
20 Marche Region, Italy." **Veterinary medicine international**, 2011.

21 AYELE, W. YAYO, M. Machackova, and I. Pavlik."The transmission and impact of paratuberculosis  
22 infection in domestic and wild ruminants." *Veterinari Medicina*, v.59, n. 7, p 205-224, 2001.

23 BASTIDA, Felix; JUSTE, Ramon A. Paratuberculosis control: a review with a focus on vaccination.  
24 **Journal of immune based therapies and vaccines**, v. 9, n. 1, p. 8, 2011.

25 BANNANTINE, J., STABEL, J., Killing of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*  
26 within macrophages. **BMC Microbiol.** V. 2, p.1-2, 2002.

27 BAUMAN CATHY. (2013).Paratuberculosis in the Small Ruminant Dairy Industries of Ontario:  
28 Prevalence, Risk Factors, and Test Evaluations.A Thesis Presented to The University of Guelph In  
29 partial fulfillment of requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Epidemiology.

30 BEHR, MARCEL A.; COLLINS, Desmond M. 30 Development of New Paratuberculosis Vaccines.  
31 **Paratuberculosis: Organism, Disease, Control**, p. 353, 2010.

32

33 BEHR, MARCEL A., AND VIVEK KAPUR."The evidence for *Mycobacterium paratuberculosis* in  
34 Crohn's disease." **Current opinion in gastroenterology**, v. 24, p. 17-21, 2008.

35 BENEDICTUS, G.; KALIS, C. J. Paratuberculosis: eradication, control and diagnostic methods. **Acta**  
36 **Veterinaria Scandinavica**, v. 44, n. 3-4, p. 231-241, 2002.

37 BHAGWAN, P.S.K. Sheep disease situation in India. **Compendium of second National Seminar on**  
38 **Sheep and Goat Disease**, Avikanager, p. 43-48, 1997.

39

40 BUSH, R. D. et al. Losses of adult sheep due to ovine Johne's disease in 12 infected flocks over a  
41 3-year period. **Australian veterinary journal**, v. 84, n. 7, p. 246-253, 2006.

42 CALDOW, G., GUNN, G.J., 2000. Assessment of surveillance and control of Johne's disease in farm  
43 animals in Great Britain.  
44 [Online]http://www.defra.gov.uk/animalh/diseases/zoonoses/zoonoses\_reports/sac2.PDF [Accessed  
45 2014, April 23]

- 1 CALKINS BM, LILIENFELD AM, GARLAND CF, et al. Trends in the incidence rate of ulcerative  
2 colitis and Crohn's disease. **Dig Dis Sci**, v. 29,p. 913–920, 1984.
- 3 CASTELLANOS E., ARANAZ A., JUAN L., ÁLVAREZ J., RODRÍGUEZ S., ROMERO B., BE-  
4 ZOS J., STEVENSON K., MATEOS A. & DOMÍNGUEZ. Single nucleotide polymorphisms in the  
5 IS900 sequence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* are strain type specific. **J. Clin.**  
6 **Microbiol**, v. 47,p 2260- 2264, 2009.
- 7 CHAITAWEE SUB, P. et al. Shedding of organisms and sub-clinical effects on production in pre-  
8 clinical Merino sheep affected with paratuberculosis. In: **EJB Manning and MT Collins (ed.),**  
9 **Proceedings of the Sixth International Colloquium on Paratuberculosis. International**  
10 **Association for Paratuberculosis, Madison, Wis. 1999.** p. 126-131.  
11
- 12 CHIODINI R. J. Crohn's disease and the mycobacterioses:a review and comparison of two disease  
13 entities. **Clin Microbiol Rev**, v. 2, p. 90-117,1989.
- 14 CLARKE, C. J. The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species.  
15 **Journal of comparative pathology**, v. 116, n. 3, p. 217-261, 1997.  
16
- 17 CLARKE, C. J.; LITTLE, D. The pathology of ovine paratuberculosis: gross and histological changes  
18 in the intestine and other tissues. **Journal of comparative pathology**, v. 114, n. 4, p. 419-437, 1996.  
19
- 20 COCITO, C., GILOT, P., COENE, M., DE KESEL, M., POUPART, P., VANNUFFEL, P., 1994.  
21 Paratuberculosis. **Clin.Microbiol. Rev**, v. 7, p. 328-345,1994.
- 22 COELHO, A. C., et al. "Seroprevalence of ovine paratuberculosis infection in the Northeast of  
23 Portugal." **Small ruminant research**, v. 71. p. 298-303, 2007.
- 24 COLLINS, DESMOND M.; GABRIC, DIANA M.; DE LISLE, GEOFFREY W. Identification of two  
25 groups of *Mycobacterium paratuberculosis* strains by restriction endonuclease analysis and DNA  
26 hybridization. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 28, n. 7, p. 1591-1596, 1990.  
27
- 28 COLLINS MT, MANNING EJB (1997). Johne's disease: The international perspective.  
29 (<http://crohn.ie/archive/johneint.htm> Accessed on 11/10/2013
- 30 COLLINS, M. T. et al. Herd prevalence and geographic distribution of, and risk factors for, bovine  
31 paratuberculosis in Wisconsin. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 204, n. 4,  
32 p. 636, 1994.COTTEREAU P., POULENARD A., POULENARD M: 1964, Un cas de  
33 paratuberculose chez la che`vre [A case of paratuberculosis in a goat]. **Bull Soc Sci Vet Med Comp**  
34 **Lyon**, v. 66, p. 351–355, 1994.
- 35 COUSSENS, Paul M. Model for immune responses to *Mycobacterium avium* subspecies  
36 paratuberculosis in cattle. **Infection and immunity**, v. 72, n. 6, p. 3089-3096, 2004.  
37
- 38 CVETNIC, Z., 2002. Paratuberkuloza ovaca i koza u Republici Hrvatskoj (in Croatian, with English  
39 abstract).**Praxis Veterinaria Zagreb**, v. 50, p. 255– 260,2002.
- 40 DALZIEL, T. Chronic intestinal enteritis. **British Medical Journal**, p. 1068-70, 1913.
- 41 DE LISLE, G. W.; COLLINS, D. M.; HUCHZERMAYER, H. F. A. K. Characterization of ovine  
42 strains of *Mycobacterium paratuberculosis* by restriction endonuclease analysis and DNA  
43 hybridization. 1992.



- 1 DE LISLE, GEOFFREY W.; YATES, GARY F.; COLLINS, DESMOND M. Paratuberculosis in  
2 farmed deer: case reports and DNA characterization of isolates of *Mycobacterium*  
3 *paratuberculosis*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 5, n. 4, p. 567-571, 1993.
- 4 DENNIS, M.M., REDDACLIFF, L.A., WHITTINGTON, R.J. Longitudinal Study of  
5 Clinicopathological Features of Johne's Disease in Sheep Naturally Exposed to *Mycobacterium avium*  
6 *Subspecies Paratuberculosis*. **Veterinary Pathology**, v. 48, p. 565-575, 2001.
- 7
- 8 DHAND, Navneet K. et al. Risk factors for ovine Johne's disease in infected sheep flocks in Australia.  
9 **Preventive veterinary medicine**, v. 82, n. 1, p. 51-71, 2007.
- 10
- 11 DHAND, N.K., SERGEANT, E., TORIBIO, J., WHITTINGTON, R.J. Estimation of sensitivity and  
12 flock-sensitivity of pooled faecal culture for *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* in sheep.  
13 **Preventive Veterinary Medicine**, v. 95, p. 248- 257, 2010.
- 14 DIÉGUEZ, Francisco J. et al. Evaluation of four commercial serum ELISAs for detection of  
15 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in dairy cows. **The Veterinary**  
16 **Journal**, v. 180, n. 2, p. 231-235, 2009.
- 17
- 18 FELLER, MARTIN, ET AL. "*Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*  
19 and Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis." **The Lancet infectious diseases**, v. 7, n.  
20 9, p. 607-613, 2007.
- 21 FIDLER, H.M., THURRELL, W., JOHNSON, N.M., ROOK, G.A., MCFADDEN, J.J. (1994)  
22 Specific detection of *Mycobacterium paratuberculosis* DNA associated with granulomatous tissue in  
23 Crohn's disease. **Gut**, v. 35, n. 4, p. 506-10, 1994.
- 24 GAO, A., et al. "Effect of Pasteurization on Survival of *Mycobacterium paratuberculosis* in  
25 Milk." **Journal of dairy science**, v. 85, n. 12, p. 3198-3205, 2002.
- 26 GRANT, I. R.; BALL, H. J.; ROWE, M. T. Effect of high-temperature, short-time (HTST)  
27 pasteurization on milk containing low numbers of *Mycobacterium paratuberculosis*. **Letters in**  
28 **applied microbiology**, v. 26, n. 2, p. 166-170, 1998.
- 29 .
- 30 GRANT, Irene R. et al. Effect of commercial-scale high-temperature, short-time pasteurization on the  
31 viability of *Mycobacterium paratuberculosis* in naturally infected cows' milk. **Applied and**  
32 **environmental microbiology**, v. 68, n. 2, p. 602-607, 2002.
- 33 .
- 34 GUMBER, S., EAMENS, G., WHITTINGTON R.J. Evaluation of a Pourquier ELISA kit in relation  
35 to agar gel immunodiffusion (AGID) test for assessment of the humoral immune response in sheep  
36 and goats with and without *Mycobacterium paratuberculosis* infection. **Vet. Microbiol**, v. 115, p. 91-  
37 101, 2006.
- 38 HAJI, KOLAEI MR; GHORBANPOUR, MASOUD; FARDBIJAR, KENARI A. A STUDY ON THE  
39 PREVALENCE OF MYCOBACTERIUM AVIUM PARATUBERCULOSIS IN SHEEP AND GOAT  
40 SLAUGHTERED AT AHWAZ ABATTOIR. **SCIENTIFIC-RESEARCH IRANIAN**  
41 **VETERINARY JOURNAL**, 2002.
- 42
- 43 HAMPE, Jochen et al. Association between insertion mutation in *NOD2* gene and Crohn's  
44 disease in German and British populations. **The Lancet**, v. 357, n. 9272, p. 1925-1928, 2001.
- 45

- 1 HASONOVA, L.; PAVLIK, I. Economic impact of paratuberculosis in dairy cattle herds: a review.  
2 **Veterinarni Medicina**, v. 51, n. 5, p. 193-211, 2006.
- 3
- 4 HERMON-TAYLOR, J. (2000). *Mycobacterium avium paratuberculosis* in the causation of Chron's  
5 Disease. **W. J. Gastroenterol**, v. 6, p. 630-632, 2000.
- 6 HERMON-TAYLOR, John; BULL, Tim. Crohn's disease caused by *Mycobacterium avium* subspecies  
7 paratuberculosis: a public health tragedy whose resolution is long overdue. **Journal of Medical**  
8 **Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 3-6, 2002.
- 9
- 10 HOSTETTER, J., STEADHAM, E., HAYNES, J., BAILEY, T., CHEVILLE, N. Phagosomal  
11 maturation and intracellular survival of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in J774  
12 cells. **Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis**, v. 26, p. 269-283, 2003.
- 13 HUGOT, JEAN-PIERRE ET AL. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with  
14 susceptibility to Crohn's disease. **Nature**, v. 411, n. 6837, p. 599-603, 2001.
- 15 KAZDA, J., PAVLIK, I., FALKINHAM, J.O., HARUSKA, K. The ecology of Mycobacteria: the  
16 impact on animals' and human health. **Springer**, New York, 2009.
- 17 KAWAJI, S., BEGG, D.J., PLAIN, K.M., WHITTINGTON, R.J., 2011. A longitudinal study  
18 to evaluate the diagnostic potential of a direct faecal quantitative PCR test for Johne's disease in sheep.  
19 **Veterinary Microbiology**, v. 148, p. 35-44, 2011.
- 20 KENNEDY, D.J., BENEDICTUS, G. Control of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis  
21 infection in agricultural species. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz**, v. 20, p. 151-179, 2001.
- 22 KHOL, J. L. et al. Paratuberculosis (JOHNE's disease) in small ruminants in Austria. In: **Slovenian**  
23 **Veterinary Research**. Veterinarska Fakulteta, Univerza v Ljubljani, p. 129-130, 2006.
- 24 KOSTOULAS, P., LEONTIDES, L., ENOE, C., BILLINIS, C., FLOROU, M., SOFIA, M. Bayesian  
25 estimation of sensitivity and specificity of serum ELISA and fecal culture for diagnosis of  
26 paratuberculosis in Greek dairy sheep and goats. **Prev. Vet. Med**, v. 76, p. 56-73, 2006.
- 27 KRUZE, Juan et al. Goat paratuberculosis in Chile: first isolation and confirmation of *Mycobacterium*  
28 *avium* subspecies paratuberculosis infection in a dairy goat. **Journal of veterinary diagnostic**  
29 **investigation**, v. 18, n. 5, p. 476-479, 2006.
- 30
- 31 KUMAR, A. A., AND B. N. TRIPATHI. "Prevalence of paratuberculosis infection in unorganised  
32 sheep flocks of Andhra Pradesh and Uttar Pradesh." **Indian Journal of Veterinary Pathology**, v. 31,  
33 n. 2, p. 151-154, 2007.
- 34 JACINTHO A.P.P., SIMPLÍCIO K.M.M.G., GARRIDO E., MAGALHÃES G. & VASCONCELOS  
35 R.O. Paratuberculose em caprino. **Anais XIV Encontro Nacional de Patologia Veterinária**, São  
36 Paulo, SP, 2009.
- 37 JOHNE N. & FROTHINGHAM I. 1895. Ein eigentümlicher Fall von Tuberculose beim, **Rind. Dtsch.**  
38 **Z. Tiermed**, v. 21, p. 438- 454, 1895.
- 39 JUAN, L. et al. Genetic diversity of *Mycobacterium avium* subspecies  
40 paratuberculosis isolates from goats detected by pulsed-field gel electrophoresis. **Veterinary**  
41 **microbiology**, v. 106, n. 3, p. 249-257, 2005.
- 42 JUSTE, Ramon A. et al. Significant reduction in bacterial shedding and improvement in milk  
43 production in dairy farms after the use of a new inactivated paratuberculosis vaccine in a field trial.  
44 **BMC research notes**, v. 2, n. 1, p. 233, 2009.
- 45 .

- 1 JUSTE, RAMON A., AND VALENTIN PEREZ."Control of paratuberculosis in sheep and  
2 goats." **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 27, n. 1, p. 127-138, 2011.
- 3 LAMBRECHT, Randall S.; COLLINS, Michael T. Mycobacterium paratuberculosis factors that  
4 influence mycobactin dependence. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 15, n. 3, p.  
5 239-246, 1992.  
6
- 7 LAMMERDING, Anna M.; FAZIL, Aamir. Hazard identification and exposure assessment for  
8 microbial food safety risk assessment. **International journal of food microbiology**, v. 58, n. 3, p.  
9 147-157, 2000.  
10
- 11 LAMONT, E.A., BANNANTINE, J.P., ARMIÉN, A., ARIYAKUMAR, D.S., SREEVATSAN, S.,  
12 2012. Identification and characterization of a spore-like morphotype in chronically starved  
13 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* cultures. PLoS One 7(1) [Epub 2012 Jan 24].
- 14 LEE K.W., JUNG B.Y., MOON O.K., YANG D.K., LEE S.H., KIM J.Y.&KWEON C.H. 2006.  
15 Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Korean Black Goats (*Capra*  
16 *hircus aegagrus*). **J. Vet. Med. Sci**, v. 68, p. 1379-1381, 2006.
- 17 MAINAR-JAIME R.C. & VAZQUEZ-BOLAND J.A. Factors associated with seroprevalence to  
18 *Mycobacterium paratuberculosis* in small ruminant farms in the Madrid region (Spain). **Prev. Vet.**  
19 **Med**, v. 34, p. 317-327, 1998.
- 20 MCEWEN, A.D., 1939. Investigations on Johne's disease in sheep. **J. Comp. Path**, v. 52, p. 69-87,  
21 1939.
- 22 MCDONALD, WENDY L., et al. "Heat inactivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*  
23 in milk." *Applied and environmental microbiology* 71.4 (2005): 1785-1789.
- 24 MCKENNA, SHAWN LB et al. Johne's disease in Canada part II: disease impacts, risk factors, and  
25 control programs for dairy producers. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 47, n. 11, p. 1089, 2006.  
26
- 27 MÉNDEZ OLVERA, ESTELA TERESITA et al. Detección de *Mycobacterium avium*  
28 *paratuberculosis* en caprinos ubicados en una zona semi-árida en el municipio de Tecozautla  
29 Hidalgo. **Revista de Salud Animal**, v. 35, n. 3, p. 182-188, 2013.
- 30 MERCIER P., BAUDRY C., BEAUDEAU F., SEEGER H. & MALHER X. Estimated prevalence of  
31 *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in herds of dairy goats in France. **Vet.**  
32 **Rec**, v. 167, p. 412-415, 2010.  
33
- 34 MICHEL, A. L.; BASTIANELLO, S. S. Paratuberculosis in sheep: an emerging disease in South  
35 Africa. **Veterinary microbiology**, v. 77, n. 3, p. 299-307, 2000.  
36
- 37 MÖBIUS, Petra et al. Unique genotypes of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*  
38 strains of Type III. **Veterinary microbiology**, v. 139, n. 3, p. 398-404, 2009.  
39
- 40 MOHAMMED, K. B. et al. Clinico-pathological studies of cattle naturally infected with  
41 *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Khartoum State, Sudan. **Vet World**, v. 5, n. 2,  
42 p. 69-74, 2012.  
43

- 1 MOHAMMED, K. B.; EL-ERAGI, A. M. S.; ZAKIA, A. M. Seroprevalence of Bovine  
2 paratuberculosis specific antibodies in Khartoum and Al-Jazeera states, Sudan. **J. Anim. Vet.**  
3 **Adv.**(16), p. 2098-2101, 2010.  
4
- 5 MOMOTANI, E. et al. Role of M cells and macrophages in the entrance of Mycobacterium  
6 paratuberculosis into domes of ileal Peyer's patches in calves. **Veterinary Pathology Online**, v. 25, n.  
7 2, p. 131-137, 1988.  
8
- 9 MORAVKOVA, M. et al. Culture-and quantitative IS900 real-time PCR-based analysis of the  
10 persistence of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in a controlled dairy cow farm  
11 environment. **Applied and environmental microbiology**, v. 78, n. 18, p. 6608-6614, 2012.  
12
- 13 MUSKENS J, ELBERS A. R, VAN WEERING H. J AND NOORDHUIZEN P. T. Herd management  
14 practices associated with paratuberculosis seroprevalence in Dutch dairy herds. **J. Vet. Med. B**, v. 50,  
15 n. 8, p. 372 – 377, 2003.
- 16 NASER, SALEH A., ET AL. "Culture of< i> Mycobacterium avium</i> subspecies< i>  
17 paratuberculosis</i> from the blood of patients with Crohn's disease." *The Lancet*, v. 364.9439 p.  
18 1039-1044, 2004.
- 19 NIELSEN SS. 2011.Effect of management practices on paratuberculosis prevalence in Danish dairy  
20 herds. *J DAIRY SCI* 94:1849 Noel-Pillers AW: 1924, Johne's disease in the goat. **J Comp Pathol**  
21 **Ther**, v. 80, p.170–172.
- 22 NIELSEN, Søren Saxmose; TOFT, Nils. A review of prevalences of paratuberculosis in farmed  
23 animals in Europe. **Preventive veterinary medicine**, v. 88, n. 1, p. 1-14, 2009.  
24
- 25 OCEPEK, M., KRT, B., PATE, M., POGACNIK, M. Seroprevalence of paratuberculosis in Slovenia  
26 between 1999 and 2001. *Slov. Vet. Res*, v. 39, p. 179–185, 2002.
- 27 OGURA, YASUNORI, ET AL. "A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to  
28 Crohn's disease." **Nature**, v. 411.683 p. 603-606, 2001.
- 29 OLIVEIRA, Diego M. et al. Paratuberculose em caprinos e ovinos no Brasil. **Pesq. Vet. Bras**, v. 30,  
30 n. 1, p. 67-72, 2010.  
31
- 32 OKUNI J. B. Occurrence of Paratuberculosis in African Countries: a Review Small Ruminant  
33 Research, v. 78, p. 197–201, 2008.
- 34 OKUNI J. B, LOUKOPOULOS P, REINACHER M, OJOK L. Seroprevalence of Mycobacterium  
35 avium subspecies paratuberculosis antibodies in cattle from Wakiso, Mpigi and Luwero districts in  
36 Uganda. **Int. J. Anim. Vet. Adv.**, v. 3, n. 3, p. 156-160, 2011.
- 37 O'REILLY, Ciara E. et al. Surveillance of bulk raw and commercially pasteurized cows' milk from  
38 approved Irish liquid-milk pasteurization plants to determine the incidence of Mycobacterium  
39 paratuberculosis. **Applied and environmental microbiology**, v. 70, n. 9, p. 5138-5144, 2004.  
40
- 41 OTT, STEPHEN L., SCOTT J. WELLS, AND BRUCE A. WAGNER. "Herd-level economic losses  
42 associated with Johne's disease on US dairy operations." **Preventive veterinary medicine**, v. 40, n. 3,  
43 p. 179-192, 1999.

- 1 PENCE, MEL, CHARLES BALDWIN, AND C. CARTER BLACK."The seroprevalence of Johne's  
2 disease in Georgia beef and dairy cull cattle." **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 15,  
3 n. 5, p. 475-477, 2003.
- 4 PÉREZ, D.V.B. et al. Effects of vaccination against paratuberculosis on tuberculosis in goats:  
5 diagnostic interferences and cross-protection. *BMC veterinary research*, v. 8, n. 1, p. 191, 2012.
- 6 PITHUA P. & KOLLIAS N.S.Estimated prevalence of caprine paratuberculosis in Boer goat herds in  
7 Missouri, USA. *Vet. Med.Int*, p. 1-5, 2012.
- 8 PICKUP, R. W., et al. "Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in lake catchments, in river  
9 water abstracted for domestic use, and in effluent from domestic sewage treatment works: diverse  
10 opportunities for environmental cycling and human exposure." **Applied and environmental  
11 microbiology**, v. 72, n. 6, p. 4067-4077, 2006.
- 12 POESTER F.P & RAMOS E.T. Infecção experimental em caprinos com *Mycobacterium*  
13 *paratuberculosis* de origem bovina. **Ciênc. Rural**, v. 24, p. 333-337, 1994.
- 14 REDDACLIFF, L. A. et al. Isolation of *Mycobacterium avium* subspecies  
15 *paratuberculosis* from muscle and peripheral lymph nodes using acid-pepsin digest prior to  
16 BACTEC culture. **Veterinary microbiology**, v. 145, n. 1, p. 122-128, 2010.  
17
- 18 REVIRIEGO, Francisco J.; MORENO, Miguel A.; DOMÍNGUEZ, Lucas. Soil type as a putative risk  
19 factor of ovine and caprine paratuberculosis seropositivity in Spain. **Preventive veterinary medicine**,  
20 v. 43, n. 1, p. 43-51, 2000.  
21
- 22 ROBBE-AUSTERMAN S. Control of paratuberculosis in small ruminants. **Vet. Clin. North Am.**,  
23 *Food Anim. Pract.*, v. 27, n. 3, p. 609-620, 2011.
- 24 ROSSITER, C.J. AND HENNING, W.R Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from thin  
25 market cows at slaughter. **J Anim Sci**, v. 79, p. 113. 2011.
- 26 SECHI, LEONARDO A., et al. "Detection and isolation of *Mycobacterium avium* subspecies  
27 *paratuberculosis* from intestinal mucosal biopsies of patients with and without Crohn's disease in  
28 Sardinia." **The American journal of gastroenterology**, v. 100, n. 7, p. 1529-1536, 2005.
- 29 SECOTT, T. E.; LIN, T. L.; WU, C. C. Fibronectin attachment protein is necessary for efficient  
30 attachment and invasion of epithelial cells by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*.  
31 **Infection and immunity**, v. 70, n. 5, p. 2670-2675, 2002.  
32  
33
- 34 SERGEANT, E. S. G.; BALDOCK, F. C. The estimated prevalence of Johne's disease infected sheep  
35 flocks in Australia. **Australian veterinary journal**, v. 80, n. 12, p. 762-768, 2002.  
36
- 37 SHANKAR H, SINGH S. V, SINGH P. K, SINGH A. V, SOHAL J. S, GREENSTEIN R. J. Presence  
38 characterization and genotype profiles of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* from  
39 unpasteurized individual and pooled milk, commercial pasteurized milk and milk products in India by  
40 culture, ELISA, PCR and PCR-REA methods. **Int J Infect Di.**, v. 14:p.121–126, 2009.
- 41 SHARIF, M. A. M. et al. Ovine paratuberculosis: a confirmed case of johne's disease in Libya. **Open  
42 Veterinary Journal**, v. 3, n. 2, p. 131-134, 2013.  
43

- 1 SHIN, J.S., YOO, H.S., MCDONOUGH, S.P., CHANG, Y. Comparative antibody response of 5  
2 recombinant antigens in related to bacterial shedding levels and development of serological diagnosis  
3 based on 35KDa antigen for Map. **J. Vet. Sci.**, v. 5, p. 111-117, 2004.
- 4 SHROFF, SAGAR et al. Evaluation of an'indigenous vaccine'based on goat adapted Mycobacterium  
5 avium subspecies paratuberculosis in Patanwadi breed of sheep naturally infected with clinical Johne's  
6 disease in North Gujarat. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences*, v. 3, n. 9, p. 322-  
7 329, 2013.
- 8 SIGUROARDOTTIR, O.G., BAKKE-MCKELLOP, A.M., DJONNE, B., EVENSEN, O.,  
9 2005.*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* enters the small intestinal mucosa of goat kids in  
10 areas with and without Peyer's patches as demonstrated with the everted sleeve method. **Comp.**  
11 **Immun. Microbiol. Infect. Dis.** v. 28, p. 223-230, 2005.
- 12 SINGH, S. V. et al. Evaluation of an indigenous ELISA for diagnosis of Johne's disease and its  
13 comparison with commercial kits. **Indian journal of microbiology**, v. 47, n. 3, p. 251-258, 2007.  
14
- 15 SINGH, S. V. et al. Therapeutic Effects of a New "Indigenous Vaccine" Developed Using Novel  
16 Native "Indian Bison Type" Genotype of Mycobacterium avium Subspecies paratuberculosis for the  
17 Control of Clinical Johne's Disease in Naturally Infected Goatherds in India. **Veterinary medicine**  
18 **international**, 2010.
- 19 SINGH, A. V. et al. High prevalence of< i> Mycobacterium avium</i> subspecies< i>  
20 paratuberculosis</i>('Indian bison type') in animal attendants suffering from gastrointestinal  
21 complaints who work with goat herds endemic for Johne's disease in India. **International Journal of**  
22 **Infectious Diseases**, v. 15, n. 10, p. 677- 683, 2011.  
23
- 24 SINGH, Shoor Vir et al. Therapeutic Management of Clinical Bovine Johne's disease Using Goat  
25 Based 'Indigenous Vaccine' in Native Haryana Cattle: Case Reports. **Adv. Anim. Vet. Sci**, v. 1, n. 1S,  
26 p. 23-28, 2013.  
27
- 28 SINGH, N., SINGH, S.V., SHANKAR, H., GUPTA, VINOD, K., TIWARI, H.A., SINGH, D. V  
29 International **Conference on Goats**. 2-8, March, 1992, New Delhi.pp. 513.
- 30 SMITH, S. L. et al. Detection of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in skeletal muscle and  
31 blood of ewes from a sheep farm in New Zealand. **New Zealand veterinary journal**, v. 59, n. 5, p.  
32 240-243, 2011.  
33
- 34 STABEL, Judith R.; KIMURA, Kayoko; ROBBE-AUSTERMAN, Suelee. Augmentation of secreted  
35 and intracellular gamma interferon following johnin purified protein derivative sensitization of cows  
36 naturally infected with Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis. **Journal of Veterinary**  
37 **Diagnostic Investigation**, v. 19, n. 1, p. 43-51, 2007.  
38
- 39 STAU A B. SEELIGB, D. WALTERB, C. SCHROEDERC, M. GANTERA. Seroprevalence of  
40 Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in small ruminants in Germany.**Small Ruminant**  
41 **Research**, v. 105,p. 361– 365, 2012.
- 42 STEHMAN, S.M., AND SHULAW, W.P., 2002. Paratuberculosis (Johne's disease) in Sheep and  
43 Goats. 1996 Committee Proceedings on sheep and goats. [Online]  
44 [http://goatconnection.com/articles/publish/article\\_128.shtml](http://goatconnection.com/articles/publish/article_128.shtml) [Accessed 2013, May 10]
- 45 STEVENSON K., ALVAREZ J., BAKKER D., BIET F., JUAN L., DENHAM S., DIMARELI Z.,  
46 DOHMANN K., GERLACH G.F., HERON I., KOPECNA M., MAY L., PAVLIK I., SHARP M.,

- 1 THIBAUT V.C., WILLEMSSEN P., ZADOCKS R.N. & GREIG A. Occurrence of *Mycobacterium*  
2 *avium* subspecies *paratuberculosis* across host species and European countries with evidence for  
3 transmission between wildlife and domestic ruminants. **BMC Microbiol.** v. 9, p. 212-224, 2009.
- 4 STEVENSON, K., HUGHES, V.M., DE JUAN, L., INGLIS, N.F., WRIGHT, F., SHARP, J.M.  
5 Molecular characterization of pigmented and non-pigmented isolates of *Mycobacterium avium* subsp.  
6 *paratuberculosis*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, p. 1798-804, 2002.
- 7 STOCKMAN S. Johne's disease of sheep. **J. Comp. Path. Ther.**, v. 24, p. 66-69, 1911.
- 8 STREETER, R.N., HOFFSIS, G.F., BECH-NIELSEN, S, SHULAW, W.P., RINGS, D.M.,  
9 1995. Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from colostrum and milk of subclinically infected  
10 cows. **Am. J. Vet. Res.** v. 56, n.10, p. 1322-1324, 1995.
- 11 TORIBIO, J. A., N. K. DHAND, AND R. J. WHITTINGTON. Identification of risk factors for OJD  
12 infection-level in sheep flocks. **Meat Livestock Australia**, Sydney, 2005.
- 13 TRAVERÍA, G.E., M. ZUMARRAGA, I. ETCHECHOURY, M.I. ROMANO, A. CATALDI, M.F.  
14 ALVARADO PINEDO, I. PAVLIK, R. PRIBYLOVA, J.R. ROMERO. First identification of  
15 *Mycobacterium avium paratuberculosis* sheep strain in Argentina. **Brazilian Journal of**  
16 **Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 897-899, 2013.
- 17 TRIPATHI, B. N., ET AL. "Seroprevalence of paratuberculosis in selected population of ruminants in  
18 India." **Proceedings of the 9th International Colloquium on Paratuberculosis**, Tsukuba, Japan, 29  
19 October-2 November, 2007.
- 20 TRIPATHI, B. N., et al. "Comparison of IS900 tissue PCR, bacterial culture, johnin and serological  
21 tests for diagnosis of naturally occurring paratuberculosis in goats." **Veterinary microbiology**, v. 116,  
22 n. 1, p. 129-137, 2006.  
23
- 24 TWORT FW, INGRAM G.L.Y. A method for isolating and cultivating *Mycobacterium enteritidis*  
25 *chronicae pseudotuberculosis bovis*, Johne, and some experiments on the preparation of a diagnostic  
26 vaccine for pseudotuberculous enteritis of bovines. **Vet J**, v. 68, p. 353-365, 1912.
- 27 VERMA, Deepak Kumar. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*: an Emerging Animal  
28 Pathogen of Global Concern. **Advances in BioResearch**, v. 4, n. 4, 2013.  
29
- 30 VOHRA, J. et al. In: National seminar on Emerging diseases of small ruminants and their containment  
31 WTO regie., p. 6-7. 2007.  
32
- 33 ZIMMER, K. et al. Contribution to the Diagnosis of Johne's Disease in Cattle. Comparative Studies  
34 on the Validity of Ziehl-Neelsen Staining, Faecal Culture and a Commercially Available  
35 DNA-Probe® Test in Detecting *Mycobacterium paratuberculosis* in Faeces from Cattle. **Journal of**  
36 **Veterinary Medicine, Series B**, v. 46, n. 2, p. 137-140, 1999.  
37
- 38 WADDELL, LISA A., ET AL. "The zoonotic potential of *Mycobacterium avium* spp.  
39 *paratuberculosis*: a systematic review." **Can J Public Health**, v. 99, p. 2, 2008.
- 40 WHITLOCK, R. H. et al. ELISA and fecal culture for paratuberculosis (Johne's disease): sensitivity  
41 and specificity of each method. **Veterinary microbiology**, v. 77, n. 3, p. 387-398, 2000.
- 42 WHITTINGTON, R.J., MARSH, I.B., REDDA CLIFF, L.A. Survival of *Mycobacterium avium* subsp.  
43 *paratuberculosis* in dam water and sediment. **Applied Env. Microbiol.**, v. 71, p. 5304-5308, 2005.

- 1 WHITTINGTON, R.J., SERGEANT, E.S., 2001. Progress towards understanding the spread,  
2 detection and control of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* in animal populations. **Aust.**  
3 **Vet. J.**, v. 79, n. 4, p. 267-278, 2001.
- 4 WHITTINGTON, R. J. et al. Molecular epidemiology of *Mycobacterium avium* subsp.  
5 *paratuberculosis*: IS900 restriction fragment length polymorphism and IS1311 polymorphism analyses  
6 of isolates from animals and a human in Australia. **Journal of clinical microbiology**, v. 38, n. 9, p.  
7 3240-3248, 2000.  
8
- 9 YADAV, D., SINGH, S.V., SINGH, A.V., SHARMA, G., KUMAR, P., KUMAR, S., SEVILLA, I.,  
10 JUSTE, R. A. **Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.** v. 31, p. 373-87, 2008.
- 11



## 1    **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

2  
3           Os dados encontrados no presente trabalho não permitem afirmar que a  
4 paratuberculose em ruminantes na região do semiárido da Paraíba-Brasil, seja uma  
5 enfermidade que esteja causando prejuízos econômicos relevantes nos rebanhos ou que  
6 apresente algum potencial de risco para população. Uma vez que, os resultados referentes à  
7 sorologia em pequenos ruminantes leiteiros foram considerados baixos. E no que se refere aos  
8 bovinos com suspeitas clínicas e lesões sugestivas de paratuberculose quando analisado do  
9 ponto de vista molecular não se obteve o resultado que identificasse a presença do agente nas  
10 lesões. Isso não significa dizer que o agente não esteja presente na área estudada uma vez que  
11 os dados de inquéritos soro epidemiológicos realizados anteriormente na região mostraram  
12 evidências da possível presença do agente nos rebanhos.

13           Devemos também levar em consideração os aspectos relacionados às características  
14 regionais onde esse trabalho foi conduzido, em que, durante a realização do mesmo essa  
15 região passou por dois longos períodos de estiagem considerados um dos maiores já  
16 registrados, que de certa forma causou a morte de grande parte do rebanho e  
17 conseqüentemente a diminuição das possíveis fontes de infecção provocando verdadeiros  
18 vazios sanitários em toda região. Além disso, aliado a temperaturas elevadas, exposição a  
19 radiações solares, baixa umidade e características de solo da área de estudo que são  
20 considerados em sua grande parte alcalinos, todos esses fatores podem ter contribuindo de  
21 certa forma para diminuição da resistência do agente no ambiente e sua identificação nesse  
22 estudo.

23           Dessa forma, sugerimos que trabalhos posteriores sejam realizados quando houve o  
24 incremento da cadeia de produção e o aumento da população de ruminantes na área, para  
25 avaliar de forma efetiva a real importância da paratuberculose na região do semiárido da  
26 Paraíba-Brasil, utilizando todos os recursos disponíveis sejam eles epidemiológicos, clínicos  
27 ou laboratoriais. E que medidas de controle e profilaxia sejam implementadas posteriormente.

28  
29  
30  
31

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
  
- 14
- 15
- 16
- 17
- 18
- 19
- 20

**ANEXOS**

1

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54

## ANEXO I – ARTIGO I- NORMAS DA REVISTA

### **Normas editoriais para publicação na Semina: Ciências Agrárias, UEL.**

**Os artigos poderão ser submetidos em português e após o aceite serem traduzidos para o inglês.**

**Os artigos em inglês terão prioridade de publicação.**

Os artigos em inglês deverão estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de tradução; correção de um dos seguintes tradutores

American Journal Experts.

Editage

Elsevier

O autor principal deverá anexar no sistema **documento comprobatório** dessa correção.

### **Categorias dos Trabalhos**

- a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;
- b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- b) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

### **Apresentação dos Trabalhos**

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português, inglês ou espanhol, no editor de texto Word for Windows, com espaçamento 1,5, em papel A4, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas, de acordo com a categoria do trabalho. Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem estar separadas no final do trabalho.

As figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões. As legendas das figuras deverão ser colocadas em folha separada obedecendo à ordem numérica de citação no texto. Fotografias devem ser identificadas no verso e desenhos e gráfico na parte frontal inferior pelos seus respectivos números do texto e nome do primeiro autor. Quando necessário deve ser indicado qual é a parte superior da figura para o seu correto posicionamento no texto.

### **Preparação dos manuscritos**

#### **Artigo científico:**

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras); Abstract com Key words (no máximo seis palavras); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final ou Resultados, Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser escritos em letras maiúsculas e minúsculas e destacados em negrito, sem numeração. Quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem receber números arábicos. O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo de congresso, nota prévia ou formato reduzido.

#### **A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:**

1. *Título do trabalho*, acompanhado de sua tradução para o inglês.
2. *Resumo e Palavras-chave*: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 150 e um máximo de 300 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).
3. *Introdução*: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

- 1 4. *Material e Métodos*: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a  
 2 compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.  
 3 5. *Resultados e discussão com conclusões ou Resultados, Discussão e Conclusões*: De acordo com o formato escolhido, estas  
 4 partes devem ser apresentadas de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao  
 5 leitor, quanto à autenticidade dos resultados, pontos de vistas discutidos e conclusões sugeridas.  
 6 6. *Agradecimentos*: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas  
 7 no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.  
 8

## 9 **Observações:**

10 Quando for o caso, antes das referências, deve ser informado que o artigo foi aprovado pela comissão de bioética e foi realizado  
 11 de acordo com as normas técnicas de biosegurança e ética.  
 12

13 *Notas*: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a  
 14 que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.  
 15

16 *Figuras*: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em  
 17 algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.  
 18

19 *Tabelas*: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem  
 20 necessidade de referência ao texto.  
 21

22 *Grandezas, unidades e símbolos*: Deverá obedecer às normas nacionais correspondentes (ABNT).  
 23

24 7. *Citações dos autores no texto*: Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com  
 25 os seguintes exemplos:  
 26

- 27  
 28 a) Os resultados de Dubey (2001) confirmam que ....  
 29 b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....  
 30 c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....  
 31 d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et. al., 1992).  
 32 e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).  
 33

### 34 **Citações com três autores**

35 Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula.  
 36 Ex: (RUSSO; FELIX; SOUZA, 2000).  
 37

38 Incluídos na sentença, utilizar vírgula para os dois primeiros autores e (e) para separar o segundo do terceiro.  
 39 Ex: Russo, Felix e Souza (2000), apresentam estudo sobre o tema....  
 40

### 41 **Citações com mais de três autores**

42 Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

43 Observação: Todos os autores devem ser citados nas Referências Bibliográficas.

44 8. *Referências Bibliográficas*: As referências bibliográficas, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, da ABNT, deverão  
 45 ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados,  
 46 independentemente do número de participantes (única exceção à norma - item 8.1.1.2). A exatidão e adequação das  
 47 referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e  
 48 afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

49 As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima  
 50 citadas, porem, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:  
 51

## 52 **Comunicação científica**

53 Uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento (nota prévia), com  
 54 documentação bibliográfica e metodologia completas, como um artigo científico regular. Deverá conter os seguintes tópicos:  
 55 Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Corpo do trabalho sem divisão de tópicos,  
 56 porém seguindo a sequência - introdução, metodologia, resultados (podem ser incluídas tabelas e figuras), discussão,  
 57 conclusão e referências bibliográficas.  
 58  
 59

## 60 **Relato de caso**

61 Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, achados inéditos, descrição de novas espécies e estudos de ocorrência ou  
 62 incidência de pragas, microrganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico ou veterinário. Deverá conter os  
 63 seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Introdução com revisão  
 64 da literatura; Relato do (s) caso (s), incluindo resultados, discussão e conclusão; Referências Bibliográficas.  
 65

## 67 **Artigo de revisão bibliográfica**

68 Deve envolver temas relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por fascículo é limitado e os  
 69 colaboradores poderão ser convidados a apresentar artigos de interesse da revista. No caso de envio espontâneo do autor (es),  
 70 é necessária a inclusão de resultados relevantes próprios ou do grupo envolvido no artigo, com referências bibliográficas,  
 71 demonstrando experiência e conhecimento sobre o tema.  
 72

O artigo de revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Desenvolvimento do tema proposto (com subdivisões em tópicos ou não); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

## Outras informações importantes

1. A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "Ad hoc" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.
2. Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).
3. Os trabalhos não aprovados para publicação serão devolvidos ao autor.
4. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.
5. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.
6. Informações devem ser dirigidas a:

<p><b>Universidade Estadual de Londrina</b>          Centro de Ciências Agrárias          Departamento de Medicina Veterinária Preventiva          Comitê Editorial da Semina Ciências Agrárias          Campus Universitário - Caixa Postal 600186051-990          Londrina, Paraná, Brasil.</p> <p>Informações: Fone: 0xx43 33714709          Fax: 0xx43 33714714          Emails: <a href="mailto:vidotto@uel.br">vidotto@uel.br</a>; <a href="mailto:csvjneve@uel.br">csvjneve@uel.br</a></p>	<p><b>ou Universidade Estadual de Londrina</b>          Coordenadoria de Pesquisa e Pós-graduação          Conselho Editorial das revistas Semina          Campus Universitário - Caixa Postal 600186051-990          Londrina, Paraná, Brasil.</p> <p>Informações: Fone: 0xx43 33714105          Fax: Fone 0xx43 3328 4320          Emails: <a href="mailto:eglema@uel.br">eglema@uel.br</a>;</p>
---	--

## Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. **Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no processo de submissão.**  
 Utilize o botão "**incluir autor**"
3. **No passo seguinte preencher os metadados em inglês.**  
 Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "**editar metadados**" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.
4. A **identificação de autoria** do trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação Cega por Pares](#).
5. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)
6. O texto está em espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11; emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL);  
 O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.
7. URLs para as referências foram informadas quando necessário.
8. **Taxa de Submissão de novos artigos**

## 1 **Declaração de Direito Autoral**

2 Os **Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da  
3 aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em  
4 aplicações educacionais e não comerciais.  
5 A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical,  
6 com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de  
7 escrever dos autores.  
8 Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário.  
9 Nesses casos, os artigos, depois de adequados, deverão ser submetidos a nova apreciação.  
10 As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

## 11

## 12 **Política de Privacidade**

13 Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por  
14 esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.  
15  
16

## 17 **Semina: Ciências Agrárias**

18 Londrina - PR  
19 ISSN 1676-546X  
20 E-ISSN 1679-0359  
21

22

1

2

## ANEXO II – ARTIGO II- NORMAS DA REVISTA

3

Pesquisa Veterinária Brasileira

4

### **Instruções aos autores**

5

6

Objetivo e política editorial

7

8 O objetivo da revista Pesquisa Veterinária Brasileira é contribuir, através da publicação dos resultados de  
9 pesquisa e sua disseminação, para a manutenção da saúde animal que depende, em grande parte, de  
10 conhecimentos sobre as medidas de profilaxia e controle veterinários.

11 Com periodicidade mensal, a revista publica trabalhos originais e artigos de revisão de pesquisa no campo da  
12 patologia veterinária no seu sentido amplo, principalmente sobre doenças de importância econômica e de  
13 interesse para a saúde pública.

14 Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail  
15 <jurgen.dobereiner@terra.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word. Havendo  
16 necessidade (por causa de figuras "pesadas"), podem ser enviados em CD pelo correio, com uma via impressa,  
17 ao Dr. JógenDóbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Caixa Postal 74.591, Seropédica,  
18 RJ 23890-000. Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para  
19 publicação em outra revista.

20 Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de  
21 apresentação da revista ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)) e o modelo em Word (PDF no site). Os originais submetidos fora das  
22 normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.

23 Apesar de não serem aceitas comunicações (Short communications) sob forma de "Notas Científicas", não há  
24 limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre  
25 os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão  
26 recebidos para submissão somente os da área de Animais Selvagens.

27 Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho  
28 Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações  
29 aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares  
30 (peerreview).

31 NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impressa e online) e distribuição via correio é  
32 cobrada taxa de publicação (page charge) no valor de R\$ 120,00 por página editorada e impressa, na ocasião do  
33 envio da prova final, ao autor para correspondência.

34

35

Apresentação de manuscritos

36

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO,  
37 INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação  
38 destes dois últimos), Agradecimentos e REFERÊNCIAS:



- 1 a) o Título do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica  
2 devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.
- 3 b) O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica,  
4 como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último  
5 sobrenome e abreviar os demais sobrenomes:
- 6 Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral  
7 escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana  
8 M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais  
9 curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação,  
10 recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;
- 11 c) o ABSTRACT deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo  
12 ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de "INDEX TERMS" ou "TERMOS DE  
13 INDEXAÇÃO", respectivamente;
- 14 d) o RESUMO deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a  
15 metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em  
16 português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;
- 17 e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância  
18 principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;
- 19
- 20 f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros  
21 pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética  
22 local;
- 23 g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados  
24 sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes,  
25 expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;
- 26 h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em  
27 desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;
- 28 i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;
- 29 j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;
- 30 k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte  
31 para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os  
32 nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver  
33 mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista  
34 ou obra, usando as instruções do "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for  
35 Biological Sciences), o "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington,  
36 DC) e exemplos de fascículos já publicados ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)).
- 37 2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:
- 38 a) os trabalhos devem ser submetidos seguindo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do  
39 modelo constante do site sob "Instruções aos Autores" ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)). A digitalização deve ser na fonte  
40 Helvética, corpo 11, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2cm de margens (superior,  
41 inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas  
42 das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus

- 1 arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através  
 2 da ferramenta "Inserir" do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde  
 3 foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;
- 4 b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no  
 5 texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a  
 6 palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas  
 7 ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão  
 8 mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem  
 9 crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter  
 10 citações bibliográficas.
- 11 c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do  
 12 autor para correspondência, bem como e-mails de outros autores;
- 13 d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas  
 14 entre parênteses e precedidas do nome por extenso;
- 15 e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de até três autores serão citados pelos  
 16 nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não  
 17 se distinguem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano,  
 18 em ambos. Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no  
 19 final da respectiva referência, "(Resumo)" ou "(Apud Fulano e o ano.)"; a referência do trabalho que serviu de  
 20 fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no  
 21 texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a  
 22 Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula  
 23 entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se  
 24 fará apenas por vírgulas, exemplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester&Haves 1974, Lemos et al. 2004,  
 25 Krametter-Froetcher et. al. 2007);
- 26
- 27 f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada isenta do uso de caixa alta, com os nomes científicos em  
 28 itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive  
 29 quanto à ordenação de seus vários elementos.
- 30 3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) originais devem ser preferencialmente enviadas por via  
 31 eletrônica. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão ".jpg"), os arquivos deverão  
 32 ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão  
 33 ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse caso, cada Figura será identificada na margem  
 34 ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida,  
 35 deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra "pé". Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com  
 36 colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída  
 37 preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser  
 38 apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos ("slides"). Para evitar  
 39 danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.
- 40 Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor  
 41 for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.
- 42 4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis,  
 43 (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e serão apresentadas no final do trabalho.
- 44 5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e colocados no final do texto. Cada um terá seu título  
 45 completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre

esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas. Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com "a" em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.

#### ANEXO III - ARTIGO III-NORMAS DA REVISTA- *Arquivos do Instituto Biológico*

##### Missão

Publicar, em português, inglês ou espanhol, artigos e comunicações científicas originais, além de revisões, que contribuam para o desenvolvimento das ciências agrárias no Brasil.

##### Escopo e Política Editorial

A Revista *Arquivos do Instituto Biológico*, publicada trimestralmente, aceita, para submissão, artigos originais de pesquisa científica em sanidade animal e vegetal voltados ao agronegócio e suas implicações no agroambiente, incluindo nesse escopo a qualidade e a segurança alimentar. Aceita, também, artigos sobre pragas sinantrópicas. Todos os trabalhos devem se enquadrar nas normas redatoriais.

##### Informações básicas

Os trabalhos enviados para publicação deverão ser inéditos e autênticos, portanto sem dados fraudulentos ou derivados de plágio e destinados exclusivamente a esta Revista. A matéria publicada será de inteira responsabilidade do(s) autor (es) e todos, tendo contribuído significativamente para a pesquisa, serão obrigados a fornecer retrações ou correções de erros se necessários. Os trabalhos não aceitos para publicação serão comunicados aos autores pelo Comitê Editorial. O Comitê Editorial fará análise dos trabalhos antes de submetê-los aos Consultores Científicos. A publicação dos trabalhos dependerá da análise efetuada pelo Corpo de Consultores Científicos e da aprovação do Comitê Editorial. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação. Serão considerados para publicação Artigos Científicos e Comunicações Científicas. Artigos de Revisão poderão ser aceitos a critério do Comitê Editorial. Eventuais dúvidas podem ser encaminhadas ao editor da Revista "*Arquivos do Instituto Biológico*", Dra. Silvia Regina Galleti, Instituto Biológico - Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP Fone: (11) 5087-1749

E-mail: [arquivos@biologico.sp.gov.br](mailto:arquivos@biologico.sp.gov.br).

##### Direitos autorais

A transcrição parcial ou total de trabalhos dos "*Arquivos do Instituto Biológico*" para outras revistas é permitida desde que citada a origem. O uso comercial das informações é proibido.

Taxa para publicação: a taxa para publicação na revista "*Arquivos do Instituto Biológico*" é de R\$ 50,00 (cincoenta reais) por página diagramada. Após o aceite do trabalho, comunicado pelo editor responsável, os autores deverão efetuar o depósito do valor correspondente à publicação em nome do Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa do Agronegócio - FUNDEPAG (CNPJ 50.276.237/0001-78) (Banco do Brasil (001), Agência 1199-1, Conta Corrente 30.200-7 ou Banco Banespa (033), Agência 0637, Conta Corrente 13-001316-9). Enviar comprovante de depósito via fax ou e-mail, mencionando o número do trabalho, para: (11) 5087-1790 ou E-mail: [arquivos@biologico.sp.gov.br](mailto:arquivos@biologico.sp.gov.br)

##### Preparação dos originais

- 1 O original deve ser submetido apenas na forma eletrônica através do e-mail [arquivos@biologico.sp.gov.br](mailto:arquivos@biologico.sp.gov.br).  
 2 O arquivo não deverá exceder 2 Mb. No e-mail de encaminhamento deverá constar nome por extenso, endereço  
 3 completo (Instituição/Universidade, Centro/Faculdade, Laboratório/Departamento, endereço postal), endereço  
 4 eletrônico e CPF de todos os autores.  
 5
- 6 Apresentação: os trabalhos deverão ser digitados em Word 97 ou versão superior, página A4, com margens de  
 7 2,5 cm, fonte Times New Roman, tamanho 12, espaço duplo e páginas numeradas em seqüência. As linhas  
 8 deverão ser numeradas de forma contínua, utilizando a ferramenta Layout em Configurar Página. O máximo de  
 9 páginas será 25 para artigos de revisão, 20 para artigos científicos e 10 para comunicação científica, incluindo  
 10 tabelas e figuras.  
 11
- 12 Artigo científico: compreenderá os seguintes itens: título, nome do(s) autor(es), endereço do primeiro autor e  
 13 local de origem dos demais autores, resumo em português, palavras-chave, título em inglês, abstract, key words,  
 14 introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos e referências.  
 15
- 16 Comunicação científica: compreenderá os seguintes itens: título, nome do(s) autor(es), endereço do primeiro  
 17 autor e local de origem dos demais autores, resumo em português, palavras-chave, título em inglês, abstract, key  
 18 words, texto sem subdivisões e referências.  
 19
- 20 Artigo de revisão: compreenderá os seguintes itens: título, nome do(s) autor(es), endereço do primeiro autor e  
 21 local de origem dos demais autores, resumo em português, palavras-chave, título em inglês, abstract, key words,  
 22 texto sem subdivisões e referências.  
 23
- 24 Aprovação do trabalho pela Comissão de Ética e Biossegurança: quando o trabalho envolver estudos em animais  
 25 de experimentação e/ou organismos geneticamente modificados, incluir o número do processo no trabalho e  
 26 encaminhar uma cópia da aprovação fornecida pelo respectivo Comitê responsável da Instituição de origem do  
 27 primeiro autor.  
 28
- 29 Idioma: o trabalho poderá ser redigido em português, inglês ou espanhol. Quando escrito em português, o  
 30 resumo deverá ter uma versão em inglês. No caso de artigo escrito em inglês ou espanhol deverá ter um resumo  
 31 em inglês ou espanhol e outro em português.  
 32
- 33 Título: embora breve, deverá indicar com precisão o assunto tratado no artigo, focalizando bem a sua finalidade  
 34 principal.  
 35
- 36 Endereço(s) do(s) autor(es): abaixo do(s) nome(s) do(s) autor(es), com chamada numérica. Descrever endereço  
 37 postal (Instituição/Universidade, Centro/Faculdade, Laboratório/Departamento, estado, país) e eletrônico do  
 38 autor principal. No rodapé da primeira lauda descrever somente a Instituição e Departamento dos demais autores.  
 39
- 40 Resumo: deverá apresentar concisamente o objetivo do trabalho, material e métodos e conclusões, em um único  
 41 parágrafo. Não ultrapassar 250 palavras.  
 42
- 43 Palavras-chave: abaixo do resumo e separado por um espaço, citar no máximo cinco palavras-chave, separadas  
 44 por vírgula. Evitar termos que apareçam no título.  
 45
- 46 Abstract: apresentar uma tradução para o inglês, do título do trabalho e do resumo. A seguir, relacionar também  
 47 em inglês (ou espanhol) as mesmas palavras-chave (key words, palabras-clave) já citadas. Não ultrapassar 250  
 48 palavras.  
 49
- 50 Introdução: descrever a natureza e o objetivo do trabalho, sua relação com outras pesquisas no contexto do  
 51 conhecimento existente e a justificativa da pesquisa feita.  
 52
- 53 Material e Métodos: apresentar descrição breve, porém suficiente para permitir uma repetição do trabalho.

- 1 Técnicas e processos já publicados, exceto quando modificados, deverão ser apenas citados. Nomes científicos  
2 de espécies, bem como drogas, deverão ser citados de acordo com regras e padrões internacionais.  
3
- 4 Resultados: apresentá-los acompanhado de tabelas e/ou figuras, quando necessário. As tabelas e figuras devem  
5 ser inseridas após as referências.  
6
- 7 Discussão: discutir os resultados obtidos comparando-os com os de outros trabalhos publicados (resultados e  
8 discussão poderão fazer parte de um único item).  
9
- 10 Tabelas e Figuras: incluir título claro e conciso que possibilite o seu entendimento sem consultas ao texto. As  
11 tabelas não deverão conter linhas verticais. No texto, use a palavra abreviada (ex.: Fig. 3). As figuras devem  
12 estar no formato jpg (fotos) ou gif (gráficos e esquemas) e com tamanho inferior a 500 Kb. As figuras originais  
13 ou com maior resolução poderão ser solicitadas após o aceite. Devem ser enviadas em arquivos individuais e  
14 nomeadas de acordo com o número da figura. Exemplos: Fig1.gif, Fig2.jpg.