



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

ISOLAMENTO DE MICOBACTÉRIAS EM CAPRINOS E OVINOS ABATIDOS NO
SEMIÁRIDO DA PARAÍBA, BRASIL.

SEVERINO SILVANO DOS SANTOS HIGINO

PATOS – PB
FEVEREIRO 2010

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO
CAMPUS DE PATOS - UFCG

H637t

2010

Higino, Severino Silvano dos Santos.

Isolamento de micobactérias em caprinos e ovinos abatidos no semiárido da Paraíba, Brasil / Severino Silvano dos Santos Higino. - Patos: CSTR/UFCG, 2010.

50p.: il.

Inclui bibliografia.

Orientadora: Sérgio Santos de Azevedo.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

1 – Epidemiologia Veterinária – Dissertação. 2. Tuberculose – ovinos e caprinos. 3- Zoonoses. 4 – Doenças transmissíveis – pequenos ruminantes. 5- Saúde Pública I – Título.

CDU: 616-036.22:619

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

ISOLAMENTO DE MICOBACTÉRIAS EM CAPRINOS E OVINOS ABATIDOS NO
SEMIÁRIDO DA PARAÍBA, BRASIL.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Medicina Veterinária da Universidade
Federal de Campina Grande para a obtenção do
título de Mestre em Medicina Veterinária.

Severino Silvano Dos Santos Higinio

MESTRANDO

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo

ORIENTADOR

PATOS – PB
FEVEREIRO 2010

FICHA DE AVALIAÇÃO

NOME: HIGINO, Severino Silvano dos Santos

TÍTULO: Isolamento de micobactérias em caprinos e ovinos abatidos no semiárido da Paraíba, Brasil.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande para a obtenção do título de mestre em Medicina Veterinária.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora:

Dr. Sérgio Santos de Azevedo

Instituição: UFCG/ Patos-PB

Assinatura: _____

Dr. Rinaldo Aparecido Mota

Instituição: UFRPE - PE

Assinatura: _____

Dr. Edísio Oliveira de Azevedo

Instituição: UFCG/ Patos-PB

Assinatura: _____

*"A única atitude intelectual digna de uma criatura superior é a de uma calma e fria
compaixão por tudo quanto não é ele próprio. Não que essa atitude tenha o mínimo cunho
de justa e verdadeira; mas é tão invejável que é preciso tê-la".*

Fernando Pessoa

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar e iluminar, em todos os momentos.

Aos meus pais, Severino e Severina Higino, por confiarem em mim nestes longos anos de caminhada e por estarem presentes mesmo com a distância, me ensinando a ter caráter e honestidade, a quem tanto amo e me orgulho, bem como a toda minha família.

A minha noiva Wigna de Begna, por toda força, segurança e paciência transmitidas dia após dia, a ela os meus mais sinceros votos de carinho e dedicação.

Ao meu orientador, Professor Dr. Sérgio Santos de Azevedo, pela confiança depositada no meu trabalho, pela amizade, orientação e colaboração na realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. Clebert José Alves, pela participação e apoio indiscutível na minha formação profissional.

À Professora Dra. Sônia Regina Pinheiro (USP-SP) pelo auxílio com a realização das técnicas de isolamento do *Micobacterium* nas amostras enviadas.

Ao Professor Dr. Albério Antonio de Barros Gomes bem como ao Prof. Dr. Felício Garino Junior, pelas orientações nas técnicas de cultivo dos diferentes agentes presentes nas amostras coletadas.

Aos colegas e amigos do Mestrado: Jucileide Barbosa, Salomão Moreira, Luana Cristiny por serem exemplos de determinação, esforço e superação.

A Médica Veterinária Msc. Vivianne Cambui, pelo auxílio nas análises moleculares das amostras pesquisadas.

À mestranda Roseane de Araújo Portela e ao Professor Msc. Antônio Flávio M. Dantas, pela confecção das lâminas e estudo histopatológico, sendo de fundamental importância para a confirmação dos dados encontrados.

À dona Francinete pela dedicação em suas funções no laboratório de Doenças Transmissíveis.

À dona Joana por todo apoio na realização do estudo histopatológico e sobretudo pela dedicação e amor a profissão.

A todos os que fazem a Área da Medicina Veterinária Preventiva do Centro de Saúde e tecnologia Rural.

Ao Dr. Dimas Assis Bandeira *in memoriam* pela fraternidade profissional e incentivo a concretização deste sonho.

À Coordenação e ao Programa de Pós-Graduação de Medicina Veterinária de ruminantes e equídeos, por proporcionar-me a obtenção deste título.

A CAPES, pelo apoio financeiro à realização desta pesquisa.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para mais esta etapa da minha vida, o meu muito obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS	01
LISTA DE FIGURAS	02
CAPÍTULO I – TUBERCULOSE CAPRINA	03
Revisão de Literatura.....	04
REFERÊNCIAS	12
CAPÍTULO II – ISOLAMENTO DE MICOBACTÉRIAS EM CAPRINOS E OVINOS ABATIDOS NO ABATEDOURO PÚBLICO DO MUNICÍPIO DE PATOS, ESTADO DA PARAÍBA, BRASIL	21
Abstract	21
Resumo	22
INTRODUÇÃO	23
MATERIAIS E MÉTODOS	25
Animais e Colheita das Amostras.....	25
Isolamento e Identificação de micobactérias.....	26
Isolamento e identificação de outras bactérias.....	27
Exame Histopatológico.....	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
CONCLUSÕES	31
REFERÊNCIAS	31
RECOMENDAÇÕES.....	31

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Descrição quanto a espécie, órgãos afetados e agente isolado das amostras coletadas entre novembro de 2008 a maio de 2009 no matadouro Público do Município de Patos, Estado da Paraíba, Brasil.	37
-----------------	---	----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II:

- Figura 1** Caprino com linfonodo pré-escapular hipertrofiado..... 39
- Figura 2** Abscesso. Observa-se a lesão com áreas centrais esbranquiçadas e enrijecidas ao corte, sendo indicativo de calcificação..... 40
- Figura 3** Linfonodo Mediastínico. Observa-se área necrótica central com restos celulares e focos de mineralização (seta branca) seguida por camadas laminares de infiltrado inflamatório delimitado por uma densa cápsula de tecido conjuntivo (seta preta) comprimindo o tecido normal adjacente. Obj.20x. HE..... 41
- Figura 4** Linfonodo Submandibular. Observa-se área necrótica margeada por infiltrado inflamatório de neutrófilos degenerados (seta preta), seguida uma camada de macrófagos epitelióides (seta cinza) e células gigantes (seta branca), Obj. 40x. HE..... 42
- Figura 5** Resultado da eletroforese em gel de agarose mostrando a amplificação realizada com os primers Tb11 e Tb12, caracterizando a amostra como pertencente ao gênero *Mycobacterium*..... 43
- Figura 6** Eletroforese em gel de agarose mostrando fragmentos de 240, 115 e 75bp gerados pela digestão do amplificado de 439bp, específico do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, pela enzima de restrição *BstEII*..... 44
- Figura 7** Eletroforese em gel de agarose mostrando fragmentos de 240, 135 e 50bp gerados pela digestão do amplificado de 439bp, específico do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, pela enzima de restrição *HaeIII*..... 45

CAPÍTULO I

TUBERCULOSE CAPRINA (Revisão de Literatura)

REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO

No Brasil a caprinovinocultura possui um papel social extremamente importante, pois estas atividades são exploradas como fonte de subsistência familiar. O rebanho de caprinos e ovinos concentra-se principalmente na região Nordeste, onde anteriormente predominava a exploração extensiva, voltada para a produção de carne e pele. Nos últimos anos, com a introdução de raças especializadas criadas em regime semi-intensivo ou intensivo, percebe-se um incremento da produção de leite nos rebanhos caprinos (SILVA, 1998).

No período que compreendeu os anos de 1999 a 2004, o crescimento da criação de ovinos e caprinos no Brasil foi de aproximadamente 4,6% e 16,5%, respectivamente (BRASIL, 2007).

Quanto ao agronegócio brasileiro da caprinovinocultura de corte, este vem apresentado um significativo crescimento. O mercado da carne é altamente comprador e a atividade vem crescendo a passos largos, em todas as regiões do país, destacando-se as regiões Nordeste, Centro-Oeste e Norte. O consumo de carnes e derivados no país é altamente favorável, e encontra-se em pleno processo de expansão, pois as estatísticas oficiais mostram um consumo de 700g habitante/ano, enquanto que o consumo em países do primeiro mundo varia de 20 a 28 kg/pessoa/ano (CORREIA, 2004).

Nesse contexto a tuberculose (TB) assume um papel relevante na caprinovinocultura, pois as perdas econômicas determinadas por esta doença são decorrentes da redução da produção leite, redução no ganho de peso e na condenação de carcaça, além dos prejuízos determinados pelo impedimento à exportação de carnes para países onde a doença é controlada (KANTOR & RITACCO, 1994).

A tuberculose é uma doença cosmopolita, que acomete bovinos, eqüinos, caprinos, caninos, aves e outras espécies animais, bem como o ser humano. O *M. bovis* vem sendo apontado como o que apresenta o maior espectro de patogenicidade para animais domésticos e silvestres, sendo responsável por 0,1% a 10% dos casos de tuberculose humana. Os caprinos são muito susceptíveis e, se forem mantidos em associação com rebanhos de bovinos acometidos, a incidência pode atingir 70% (RADOSTITS et al., 2002).

Devido às suas características zoonóticas e ao crescente número de casos em indivíduos portadores de imunodeficiência adquirida (AIDS), a tuberculose está reassumindo uma grande importância no cenário nacional e mundial e continua sendo bastante estudada (ABRAHÃO, 1999; ACHA & SZYFRES, 1986; BAPTISTA et al., 2004).

A ocorrência da tuberculose nos caprinos faz desta espécie uma fonte de infecção para humanos, devendo então ser considerada um problema no avanço de programas de controle e erradicação (SEVA et al., 2002).

2. ASPECTOS HISTÓRICOS

A tuberculose é uma doença tão antiga quanto a civilização. A natureza exata da tuberculose nos ruminantes e sua relação com a "tísica" do homem foi tema de intenso debate por muitas décadas (COLLINS E GRANGE, 1983). Os agentes causadores da tuberculose convivem com a humanidade à milênios e provavelmente foram se adaptando aos humanos com o passar do tempo, sobrevivendo em populações de baixa densidade e também ao ar livre (MOSTOWY, 2005). Segundo Daniel (2006), a doença infectou as populações ao longo da pré-história e história, surgiu em grandes epidemias e então retrocedeu. Desta forma, as micobactérias podem ter matado mais pessoas do que qualquer outro patógeno ao longo do tempo.

Uma hipótese é que o gênero *Mycobacterium* pode ter surgido a mais de 150 milhões de anos no sul da África. Há também relatos da presença de achados patológicos em ossos de múmias egípcias em 2400 A.C (HAYMAN, 1984).

O termo *phthisis* (consumo) apareceu primeiro na literatura grega por volta de 460 D.C. Hipócrates descreveu esta como sendo a doença mais difundida daquela época, e notou que a mesma era quase sempre fatal. Descrições patológicas e anatômicas exatas da doença começaram a aparecer no século XVII. Em 1679, Sylvius foi o primeiro a identificar consistentes lesões pulmonares (tubérculos) e extra pulmonares em pacientes terminais (SARREL, 2009).

Já em 1868 Villemin inoculando coelhos com material proveniente de vacas doentes, reproduziu experimentalmente a tuberculose, e com o material infectivo notou que este era mais virulento para os coelhos do que o material análogo proveniente de humanos.

A história da tuberculose mudou dramaticamente no dia 24 de março de 1882, quando Koch fez a famosa apresentação da "*Die Aetiologie der Tuberculose*", para a Sociedade Fisiológica de Berlim; descobrira então o agente infeccioso, corando-o pela fucsina-anilina e isolando-o em meio de cultura em 1884. Logo após, a diferenciação entre o bacilo humano, bovino e o aviário foi primeiramente descrita nos Estados Unidos por Smith em 1897 (PRITCHARD, 1988).

Em 1970 Karlson e Lessel propuseram a separação do *Mycobacterium bovis*, que até essa data era considerada uma espécie ou variante do *Mycobacterium tuberculosis* e era denominado *M. tuberculosis* subsp. *bovis* ou *M. tuberculosis* variante *bovis* (BERGEY'S, 1986; GRANGE & COLLINS, 1987). Mas foi Ravenel que obteve a primeira prova

definitiva da transmissão da tuberculose bovina ao homem, decorrente da ingestão de alimentos (FELDMAN, 1955).

Outro desenvolvimento importante foi provido pelo bacteriologista francês Calmette que, junto com Guerin, utilizando meios de cultura específicos conseguiram baixar a virulência da bactéria da TB bovina, criando a base para a vacina BCG que tem seu uso em seres humanos difundido até hoje (SARREL, 2009).

Nos caprinos a doença já foi relatada em muitos países como exemplo a Espanha, Austrália, Índia e Zaire; os diagnósticos foram estabelecidos por achados de necropsia, inspeção em abatedouros, ou pela realização do teste tuberculínico. Já nos ovinos a tuberculose vem sendo descrita na Inglaterra desde 1867, em rebanhos que conviviam com bovinos (BERNABÉ et al., 1991; COUSINS et al., 1993; LESSLIE et al., 1960; SEVA et al., 2002).

3. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

A tuberculose tem ampla distribuição geográfica, ocorrendo em países desenvolvidos ou de economias emergentes, mas que expõem contrastes profundos de desenvolvimento, estando a doença associada a altos indicadores de pobreza segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 1994).

O termo tuberculose deve ser reservado para designar a doença causada pelo *M. tuberculosis*, *M. bovis* e *M. avium*, enquanto as outras micobactérias causam doenças que hoje são referidas como micobacterioses (FONSECA, 1982; NAZÁRIO et al., 1987).

No Brasil estima-se que ocorrem 80.000 casos novos de tuberculose em humanos, dos quais aproximadamente 4.000 (5%) são causados por *M. bovis*. Diversas espécies, incluindo o homem, são sensíveis à infecção por este agente. No entanto, os bovinos, caprinos e suínos são os mais susceptíveis (RIET-CORREA, 2007).

O Programa Nacional de Controle da Tuberculose do Ministério da Saúde, estima que esta doença esteja presente em 1/3 da população mundial e a cada ano surgem em torno de oito milhões de novos casos (BRASIL, 2005).

Nos animais sua prevalência é marcante nos países em desenvolvimento e baixa nos desenvolvidos onde a doença foi erradicada ou está em fase de erradicação (ACHA & SZYFRES, 2001), devido a programas de controle bem estruturados, inspeção de carnes e pasteurização do leite (GRANGE & COLLINS, 1987; MOTA & NAKAJIMA, 1992). Na América Latina e Caribe existem áreas cuja prevalência ultrapassa 1% (BRASIL, 2006).

No Brasil já houveram notificações em 315 municípios constituindo 5% do total de casos no mundo, ou seja, 90.000 novos casos anuais representando uma incidência de 54,7/90.000 habitantes (OMS, 2000), destacando-se o Estado de São Paulo, Rio de Janeiro, e as cidades de Salvador e Belo Horizonte como possuindo os maiores índices de

ocorrência da doença. Nestes, a faixa etária mais afetada está entre os 20 - 39 anos de idade, sendo destes 64,5% homens (BRASIL, 2005).

Recentes pesquisas apontam até para sua presença em indígenas na Amazônia, não só por causa do seu histórico despovoamento, mas pela crescente difusão do agente na região (CARLOS, 2007).

4. AGENTE ETIOLÓGICO

As bactérias causadoras da tuberculose pertencem a família *Mycobacteriaceae*, gênero *Mycobacterium*. São bastonetes curtos aeróbicos, imóveis, não capsulados, não flagelados, apresentando aspecto granular quando corados, medindo de 0,5 a 7,0 μm de comprimento por 0,3 μm de largura, sendo a álcool-ácido-resistência a sua propriedade mais característica. No entanto, muitas características, inclusive a tintorial, superpõem-se nos gêneros *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus* e *Corynebacterium* (CORREA & CORREA, 1973; PRITCHARD, 1988).

As bactérias do complexo *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis* e *M. africanum*) são as principais causadoras da tuberculose nos mamíferos (BRASIL, 2006; REBHUM, 2000).

O *M. bovis* tem um amplo espectro de patogenicidade para as espécies domésticas e silvestres, e pode participar da etiologia da tuberculose na espécie humana. A doença humana causada pelo *M. bovis* é também denominada tuberculose zoonótica (MERCK, 1996; BRASIL, 2006).

No ambiente, em condições favoráveis, o agente pode sobreviver fora de um hospedeiro animal por até mais de dois anos (DUFFIELD & YOUNG; 1985). É resistente a diversos desinfetantes químicos, com exceção dos produtos que desnaturam proteínas como o fenol, formol, cresol e álcool e está se mostrando resistente à pirazinamida, que é uma das principais drogas anti-tuberculosas (DANKNER, 1993; FANNING & EDWARDS; 1991; GRANGE & COLLINS, 1987).

5. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E ECONÔMICOS

Alguns fatores estão modificando a epidemiologia da tuberculose no homem, entre os quais destaca-se a epidemia de AIDS, que se fez notar mundialmente no aumento do número de casos de tuberculose ativa (COLLINS, 1994; DABORN & GRANGE, 1993). Segundo Lawn et al. (2002), este fato está claramente relacionado com a queda na resposta imune inata e a depleção numérica e funcional das CD-4 *Mycobacterium*-específicas, dos linfócitos T e diminuição da produção de citocinas causados pelos mecanismos de multiplicação do vírus HIV.

Um dos principais receios atualmente é de que a tuberculose venha a se tornar uma doença incurável como resultado do aparecimento de cepas multidroga-resistentes, devido a tratamentos inadequados ou incompletos (ZACARÍAS et al., 1994)

Em 1993, uma declaração da OMS colocou a tuberculose em "estado de emergência" em todo o mundo (CALERO, 1995; RAVIGLIONE et al., 1995). Outra preocupação foi a considerável e contínua importância da infecção pelo *Mycobacterium bovis* no ser humano e em animais. Assim esta entidade recomenda melhorias nos aspectos de saúde pública veterinária em relação à infecção por *M. bovis*, especialmente nas populações de risco como magarefes e tratadores de animais (OMS, 1994).

Em se tratando de animais, o *M. bovis* possui uma gama enorme de hospedeiros, mas até poucos anos havia pouca preocupação sobre a infecção em espécies diferentes dos seres humanos e do gado; com o crescimento das pesquisas notou-se a importância de outros animais domésticos na epidemiologia da doença, bem como de animais silvestres como cervos, texugos e algumas espécies de ungulados em áreas limitadas de vários países. Esta situação possibilita uma diversificação nas cadeias de transmissão levando a crer que onde há interação entre vida selvagem e animais domésticos, a erradicação da doença se torna dificultada (MORRIS, 1994). Nos caprinos e ovinos a tuberculose vinha sendo considerada uma doença rara, o que levou ao conceito de que estas espécies fossem naturalmente resistente à infecção pelo gênero *Mycobacterium* (GUTIÉRREZ et al., 1995).

Poucas doenças geram as preocupações emocionais, econômicas e de saúde pública quanto a tuberculose (REBHUN, 2000; SILVA, 2001). Em relação a pecuária a importância econômica atribuída a doença está baseada nas perdas diretas resultantes da morte de animais, queda no ganho de peso, diminuição na produção de leite e do descarte precoce de animais com alto valor zootécnico (BRASIL, 2006). A doença está sob rigoroso controle em muitos países desenvolvidos, mais ainda é a responsável por perdas em muitos países de menor desenvolvimento (RADOSTITS et al., 2002).

Floyd (2003) conduziu um estudo que buscou analisar os impactos econômicos resultantes do controle da tuberculose humana em países industrializados e simultaneamente em países em desenvolvimento. Relatou que entre 1982 a 2002, os países desenvolvidos investiram mais em programas preventivos que resultaram em menores custos no controle da doença, que os países em desenvolvimento, que por sua vez, não realizaram tantas pesquisas e implementaram a estratégia de combate a doença baseando-se em terapias de curta duração, não obtendo tanto êxito e por sua vez mobilizando um maior investimento neste controle.

A tuberculose constitui uma significativa causa de condenação de animais em abatedouros e de mortalidade animal, resultando numa perda econômica estimada em 10% da produção leiteira e em 20% da produção da carne bovina brasileira (GRANGE & YATES, 1994; FERREIRA & BERNARDI, 1997).

A principal fonte de infecção para caprinos são os bovinos, aves e o homem (ACHA & SZYFRES, 2001); a transmissão ocorre em 90% dos casos pela inalação de aerossóis contaminados com o microrganismo. Um animal infectado pode também liberar o agente pelas fezes, urina, leite e outros fluidos corporais (BRASIL, 2006).

As micobactérias se disseminam por via sanguínea podendo ser secretadas pelo leite de fêmeas lactantes. A tuberculose pode ser espalhada também por gotículas de aerossol, saliva e fezes depois da ingestão de material caseoso (GÓMEZ et al., 1992).

Vários autores revisaram os mecanismos de transmissão do *M. bovis* de animais infectados para humanos. A transmissão natural do *M. bovis* pode acontecer entre animais domésticos e selvagens de mesma ou de diferentes espécies, de animais para humanos e de humanos para animais ou entre humanos (MORRIS et al., 1994; COLLINS, 2000).

De bovinos para caprinos a transmissão ocorre nos locais onde estes encontram-se em contato por via aerógena ao pastarem junto com os bovinos infectados (COUSINS et al., 1993, LITTLE et al., 1982).

6. PATOGENIA

Após a penetração no organismo do hospedeiro, o bacilo atinge o alvéolo e é capturado por macrófagos; a partir daí, seu destino é determinado pela virulência do microrganismo, carga infectante bem como a resistência do hospedeiro (BRASIL, 2006).

A doença começa com a formação de um foco primário, que no homem e nos bovinos, se localiza geralmente no pulmão, e nas aves, quase sempre no trato intestinal. Nos mamíferos, a drenagem linfática a partir do foco primário leva à formação de lesões caseosas em linfonodos adjacentes; essas lesões, junto com o foco primário, são conhecidas como “complexo primário” (MERCK, 1996).

A lesão primária pode permanecer localizada, estender-se dentro do pulmão ou disseminar-se através dos vasos linfáticos e/ou sanguíneos, afetando outros órgãos ou as membranas serosas (ANDRADE, 1991; RIET-CORREA, 2007).

Cerca de duas semanas mais tarde, inicia-se a calcificação das lesões. O foco necrótico em desenvolvimento é rapidamente circundado por tecido de granulação, monócitos e plasmócitos, caracterizando o “tubérculo” patognomônico. As bactérias passam desse foco primário ao linfonodo regional, culminando com o desenvolvimento de lesões similares (RADOSTITS et al., 2002).

A disseminação pós-primária de um complexo primário varia consideravelmente quanto ao tipo e localização (BLOOD, 1991). Quando se dissemina pela via sanguínea causa a denominada “tuberculose miliar”. (ANDRADE, 1991; RIET-CORREA, 2007). Também pode assumir a forma protraída, quando se dá por via linfática, acometendo o

próprio pulmão, linfonodos, fígado, baço, úbere, rins, sistema nervoso central, disseminando-se por todos os tecidos (BRASIL, 2006).

7. SINAIS CLÍNICOS

Alguns animais podem apresentar perda de peso, debilidade, febre, anorexia e sinais respiratórios caracterizados por dispnéia, tosse e corrimento nasal seroso ou purulento. Pode haver hipertrofia de linfonodos periféricos, principalmente os da cabeça e os pré-escapulares (MELO, 2005; RIET-CORREA, 2007), causando pressão nos órgãos adjacentes manifestando assim os sinais mais comuns do trato digestório.

Nos caprinos a broncopneumonia é uma forma muito comum de apresentação desta doença manifestando-se por tosse e dispnéia. Em alguns caprinos ocorre ulceração intestinal com diarreia e aumento dos linfonodos do trato digestivo (BLOOD, 1991). São comuns os achados de animais reagentes e/ou animais com lesões sugestivas na necropsia do que a ocorrência de casos clínicos aparentes (RADOSTITS et al., 2002). Os sintomas são similares aos da tuberculose bovina, porém mais brandos e mesmo estando afetados pela tuberculose, os caprinos ainda podem apresentar uma boa condição corpórea (GOLDEN, 1921).

Em filhotes a doença pode ter evolução mais acelerada e provocar a morte precoce (RADOSTITS et al., 2002), ou mesmo falha no crescimento com uma eventual emaciação e doença mais generalizada (REBHUM, 2000).

8. LESÕES

As lesões macroscópicas de tuberculose caracterizam-se por pequenos nódulos aczentados que, geralmente, contêm pequenas áreas centrais amarelas, de aspecto caseoso. Posteriormente, essa lesão progride formando uma área central amarelada de aspecto caseoso, que ocupa a maior parte da lesão e que aparece rodeada por cápsula fibrosa (RAMIREZ, 2003) e esbranquiçada (RIET-CORREA, 2007). Os tubérculos geralmente são firmes, com centro caseoso, e quando calcificados rangem ao corte com faca, como se contivessem areia. Os grandes nódulos são caseosos, às vezes calcificados, ou mesmo com fusão, apresentando-se como abscessos de pus espesso (CORREA et al., 1980). A presença de lesões em outros órgãos, além do complexo primário, indica generalização da infecção, o que em frigoríficos é um critério importante para proceder a condenação de toda a carcaça (RIET-CORREA, 2007).

Nos caprinos os granulomas tuberculosos podem ser encontrados em qualquer linfonodo, com mais frequência nos bronquiais, retrofaríngeos e mediastínicos (RADOSTITS et al., 2002).

As lesões histológicas caracterizam-se por área de necrose caseosa central, com área de calcificação (RAMIREZ, 2003), podendo estar rodeada por uma área onde predominam as células epitelioides e as células gigantes. Na periferia observam-se monócitos e linfócitos, e proliferação de tecido fibroso (RIET-CORREA, 2007).

1. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico clínico possui valor relativo, uma vez que o animal pode estar infectado, com um foco localizado e apresentar-se aparentemente sadio. Este torna-se geralmente possível somente após a doença se encontrar avançada para os quais o teste tuberculínico perde seu valor pela possibilidade do fenômeno de anergia à tuberculina (MERCK, 1996; BRASIL, 2006).

O diagnóstico definitivo da tuberculose é realizado mediante o isolamento e a identificação do agente por métodos bacteriológicos. Amostras frescas como abscessos localizados em diferentes órgãos como baço, fígado, linfonodos, pulmão e glândula mamária, podem ser coradas pelo método de Ziehl-Neelsen para a pesquisa de bacilos álcool-ácido-resistentes (BAAR), contudo a sensibilidade do método é baixa, e um resultado positivo sugere fortemente tratar-se de micobactéria, mas não informa a espécie. Essa mesma coloração pode ser empregada para colônias isoladas em meios de cultura (TRABULSI, 2004; RIET-CORREA, 2007; BRASIL, 2006).

O diagnóstico alérgico-cutâneo com tuberculina é o instrumento básico para programas de controle e erradicação da tuberculose em todo o mundo. Pode revelar infecções incipientes a partir de 3 a 8 semanas da exposição ao *Mycobacterium*, alcançando boa especificidade e sensibilidade e sendo considerado pela OIE como técnica de referência (ÁLVAREZ, 2008).

A tuberculina é um extrato obtido de filtrados de cultivos de *Mycobacterium* sp. previamente esterilizados pelo calor. A reação é mediada por células e quando a tuberculina é injetada na pele de um animal normal, não ocorre nenhuma resposta significativa. Mas, ao injetá-la em um animal infectado por micobactérias, portanto sensibilizado para a tuberculina, ocorrerá uma resposta de hipersensibilidade retardada com endurecimento e edema progressivo no local da inoculação, que atinge seu máximo às 72 horas (mais ou menos 6 horas). Após este tempo, a reação tende a diminuir lentamente. A intensidade da reação cutânea pode ser quantificada pela mensuração do tamanho do edema ou engrossamento da pele. A reação à tuberculina pode evoluir para uma necrose central, algumas vezes acompanhada por vesícula (BRASIL, 2006).

O alérgoteste da tuberculina foi padronizado para caprinos por Silva (2006); também foi procedida a padronização do teste para ovinos (CYRILLO, 2007). Pignata et

al. (2009), examinaram 1.866 caprinos procedentes de 84 propriedades localizadas na microrregião de Monteiro, utilizando o alérgoteste padronizado para caprinos, e encontraram 9/1866 (0,47%) animais positivos.

2. CONTROLE E PROFILAXIA

O controle da tuberculose fundamenta-se no bloqueio de pontos críticos da cadeia de transmissão da doença, sendo necessário inicialmente conhecer a situação sanitária do rebanho, também deve-se adquirir animais somente de propriedades que sejam livres da doença, possuir instalações adequadas com boa ventilação e exposição direta a luz solar, bem como realizar a desinfecção periódica das mesmas (BRASIL, 2006).

Outras medidas importantes constituem o monitoramento dos rebanhos pela detecção das lesões tuberculosas, o controle de trânsito e participação em feiras e exposições, a inspeção sanitária dos produtos de origem animal destinados ao consumo humano e a pasteurização do leite e derivados, diminuindo assim os riscos de transmissão do *M. bovis* ao homem (RADOSTITS, 2002; BRASIL, 2006).

Em 2001, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento instituiu o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina e Bubalina (PNCEBT) com o objetivo de diminuir o impacto negativo dessas zoonoses na saúde humana e animal; dentre as estratégias de ação, está incluída a realização de tuberculinizações periódicas nos rebanhos e sacrifício ou destruição dos animais positivos, visando, assim, diminuir a prevalência desta doença no país (BRASIL, 2006).

Em 2004, foi aprovado o regulamento técnico do Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos (PNSCO) que tem por objetivo controlar ou erradicar a ocorrência de doenças de caprinos e ovinos, por meio de ações sanitárias e de vigilância epidemiológica definidas pelo Departamento de Defesa Animal e executadas pelos serviços oficiais e médicos veterinários cadastrados (BRASIL, 2004). No entanto, a tuberculose nestas espécies não está contemplada no referido programa.

REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, R. M. C. M. Tuberculose humana causada pelo *Mycobacterium bovis*: considerações gerais e a importância dos reservatórios animais. **Arch. Vet. Science**, v.4, n.1, 1999.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**. 3ed, Washington: OPS. 2001.

ANDRADE, G. B., RIET-CORRÊA, F., MIELKE, B. V., MENDEZ, M. C., SHILD, A. L. Estudo histológico e isolamento de micobactérias de lesões similares a tuberculose no sul do Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.** v.11, p.81-86, 1991.

ÁLVAREZ, J.; JUAN, L. DE J. B.; ROMERO, B.; SÁEZ, J. L.; GORDEJO, R. F. J.; BRIONES, V.; MORENO, M. Á.; MATEOS, A.; DOMÍNGUEZ, L.; ARANAZ, A. Interference of paratuberculosis with the diagnosis of tuberculosis in a goat flock with a natural mixed infection. **Veterinary Microbiology**, Spain, v.128, p.72–80, 2008.

BAPTISTA, F.; MOREIRA, E. C.; SANTOS, W. L. M.; NAVEDA, L. A. B. Prevalência da tuberculose em bovinos abatidos em Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.56, n.5, p.577-580, 2004.

BERGEY'S **Manual of systematic bacteriology**. Edited by Sneath, P.H.A. et al., Williams & Wilkins, Baltimore, v.2, sec.16, p.1435-57, 1986.

BERNABÉ, A.; GÓMEZ, M. A.; NAVARRO, J. A.; GÓMEZ, S.; SÁNCHEZ, J.; SIDRACH, J.; MENCHEN, V.; VERA, A.; SIERRA, M. A. Morphopathology of caprine tuberculosis. Part I. Pulmonary tuberculosis. **Ann. Vet.**, Murcia, v.6, p.9–20, 1991.

BLOOD, DR. D. C.; HENDERSON, J. A.; RADOSTITS, O. M. **Clínica Veterinária**. 7ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.512-528, 1991.

BRASIL, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA, 2007.. **Pesquisa da Pecuária Municipal**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=73&z=t&o=20>>. Acesso em 19 agosto de 2009.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Defesa Animal. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT)** – Manual Técnico. Brasília, P.51-68, 2006.

BRASIL, Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Programa Nacional de Controle da Tuberculose**. Boletim Informativo. Brasília, 2005.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Sanidade de Caprinos e Ovinos – (PNSCO)**. 2004. Acessado em 07 de janeiro de 2010. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>.

CALERO, J. R. Incremento de la tuberculosis y coinfeccion con el SIDA. **An. R. Acad. Nac. Med.** Madrid, v.12, p.21-42, 1995.

CARLOS, E. A.; COIMBRA, JR.; BASTA, P. C. The burden of tuberculosis in indigenous peoples in Amazonia, Brazil. Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz. **Elsevier Health**, V.101, p.635-636, 2007.

COLLINS, C. H. The bovine tubercle bacillus. **Br. J. Biomed. Sci.**, v.57, p.234–240, 2000.

COLLINS, F. M. The immune response to mycobacterial infection: development of new vaccines. **Vet. Microbiol.**, v.40, p.95-110, 1994.

CORREA, C. N. M.; CORREA, W. M.; SPAGO, N.; MATSUMOTO, T. Tuberculose nervosa em vaca leiteira. **Arq. Esc. Vet. UFMG**. v.32, n.2, p.265-269, 1980.

CORREA, C. N. M.; CORREA, W. M. Micobactérias isoladas de bovinos e suínos em São Paulo. Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.40, n.3, p.205-208, 1973.

CORREIA, F. W. S. **Perfil setorial da caprinovinocultura: no Mundo, Brasil, Nordeste e Sergipe**, Inf. SEBRAE, v.1, p.17, 2004.

COUSINS, D. V.; FRANCIS, B.R.; CASEY, R.; MAYBERRY, C. *Mycobacterium bovis* infection in a goat. **Aust. Vet. J.**, v.70, p.262-3, 1993.

CYRILLO, F. C.; PINHEIRO, S. R.; LEAL, M. L. R.; MORENO, A.; MOTTA, P. M. P. C.; SINHORINI, I. L.; VASCONCELLOS, S. A.; BENESI, F. J. Teste de tuberculinização em ovinos (*Ovis aries*) experimentalmente sensibilizados. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.74, n.3, p.191-7, 2007

DABORN C.J. & GRANGE J.M. HIV/AIDS and its implications for the control of animal tuberculosis. **Br. Vet. J.**, v.149, p.405-17, 1993.

DANIEL, T. M. The history of tuberculosis. **Respir Med**, v.100, p.1862-70, 2006.

DANKNER, W. M.; WAECKER, N. J.; ESSEY, M. A.; MOSER, K.; THOMPSON, M.; DAVIS, C. E. Mycobacterium bovis infections in San Diego: a clinicoepidemiologic study of 73 patients and a historical review of a forgotten pathogen. **Medicine**, Baltimore, v.72, p.11-37, 1993

DUFFIELD, B. J. & YOUNG, D. A. Survival of Mycobacterium bovis in defined environmental conditions. **Vet. Microbiol.**, v.10, p.193-197, 1985.

FANNING, A. & EDWARDS, S. Mycobacterium bovis infection in human beings in contact with elk (Cervus elaphus) in Alberta, Canada. **Lancet**, v.338, p.1253-1255, 1991.

FELDMAN, J. **Tuberculose Humana de origem bovina**. Imprensa oficial: Belo Horizonte, MG, Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais. Tese de concurso para catedrático de fisiologia. p.239, 1955.

FERREIRA NETO, J. S.; BERNARDI, F. Control of bovine tuberculosis, particularly in Brazil. **Higiene Alimentar**, v.11, p.9-13, 1997.

FLOYD, K. Costs and effectiveness: the impact of economic studies on TB control. Switzerland, **Elsevier Health**, v.83, 187-200, 2003.

FONSECA, F. C. Como combater a brucelose e tuberculose. **Agric. Hoje**, v.8,n.84, p.20-4, 1982.

GOLDEN, G.E. Tuberculosis in milk goats. **Journal of the American Veterinary Medical Associations**, v.59, p.79-81, 1921.

GÓMEZ, M. A.; MENCHÉN, V.; NAVARRO, J. A.; SÁNCHEZ, J.; GÓMEZ, S.; TORREBLANCA, P. AND BERNABÉ, A., La tuberculosis abierta caprina como factor de riesgo en el contagio interespecifico, **Ciencias Veterinarias**, v.5, p.59-62, 1992.

GRANGE, J. M. & COLLINS, C. H. 1987. Bovine tubercle bacilli and disease in animals and man: special article. **Epidemiol. Infect.**, v.92,2p.21-34.

GRANGE, J. M.; YATES, M. D. Zoonotic aspects of Mycobacterium bovis infection. **Vet. Microbiol.**, v.40, p.137-51, 1994.

GUTIÉRREZ, M.; TELLECHEA, J.; GARCÍA MARÍN, J.F. Evaluation of cellular and serological diagnostic tests for the detection of *Mycobacterium bovis*-infected goats.

Veterinary Microbiology, v.62, p.281–290, 1995.

HAYMAN, J. *Mycobacterium ulcerans*: an infection from Jurassic time? **Lancet**, v.2, p.1015–1016, 1984.

KANTOR, I.N.; RITACCO, V. Bovine tuberculosis in Latin America and the Caribbean. Current Status, Control and eradication programs. **Veterinary microbiology**, v.40, n.1-2, p.5-14, 1994.

LAWN, S. D.; BUTERA, S. T.; SHINNICK, T. M.. Tuberculosis unleashed: the impact of human immunodeficiency virus infection on the host granulomatous response to *Mycobacterium tuberculosis*: Review, **Microbes and Infection**, USA, V.4 P.635–646, 2002.

LESSLIE, I. W.; FORD, E. J. H.; LINZELL, J. A. Tuberculosis in goats caused by the avian type tubercule bacillus., **Vet. Rec.** V.72, p.25–27, 1960.

LITTLE, T. W. A.; SWAN, C.; THOMPSON, H. V.; WILLESMTIH, J. W. Bovine tuberculosis in domestic and wild mammals in an area of Dorset. III. The prevalence of tuberculosis in mammals other than badgers and cattle. **J. Hyg. Lond.**, v.89, p.225-34, 1982.

MERCK: Um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário. Clarence M. Fraser, editor – 7ed. São Paulo. Roca. 443-448p., 1996.

MELO, M. T.; MELO, L. E. H.; SALDANHA, S. V.; EVÊNCIO, J. N.; TENÓRIO, T. G. S.; NASCIMENTO, E. T. S.; FERNANDES, A. C. C. **Ocorrência da Tuberculose Caprina no Estado de Pernambuco.** Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.72, (supl.2), p.1-64, 2005.

MORRIS, R. S.; PFEIFFER, D. U.; JACKSON, R. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. **Vet. Microbiology**, v.40, p.153-177, 1994.

MOSTOWYA, S.; MARCEL, A.; BEHR, M. D. The Origin and Evolution of *Mycobacterium tuberculosis*, **Clin. Chest. Med.** Canada, v.26, p.207-216, 2005.

MOTA, P. M. P. C. & NAKAJIMA, M. **Tuberculose bovina**. In: Charles, T.P. & Furlong, J. Doenças dos bovinos de leite adultos. Coronel Pacheco, EMBRAPA - CNPGL, p.97-122, 1992.

NAZÁRIO, W.; MARTINI, M.; CAMBRIA, A. M. Tuberculose: um poderoso inimigo que deve ser evitado. **Balde Branco**, v.22, p.24-26, 1987.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Zoonotic (*Mycobacterium bovis*): memorandum from a WHO meeting with the participation of FAO. Bull. **World Health Organ.**, v.72, p.851-857, 1994.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Anti-tuberculosis drug resistance in the world**. Report N 2. Prevalence and trends. Geneva, 278p, 2000.

PIGNATA W.A., ALVES C.J., AZEVEDO S.S., DANTAS A.F.M., GOMES A.A.B., REMÍGIO F.R., LIMA F. S. Prevalência da tuberculose caprina no semi-árido paraibano. **Pesq. Vet. Bras.** 29(7):526-532, 2009.

PRITCHARD D.G. A century of bovine tuberculosis 1888-1988: conquest and controversy. **J. Comp. Pathol.**, v.99. p.357-399, 1988.

RADOSTITS, O. M.; BLOOD, D. C.; GAY, C. C. & HINCHCLIFF, D. C. **Clínica Veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e ovinos**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 9ed, p.817-826, 2002.

RAMIREZ, I. C.; SANTILLAN, M. A.; DANTE, V. The goat as an experimental ruminant model for tuberculosis infection, mexico, **Small Ruminant Research** v.47, p.113–116, 2003.

RAVIGLIONE, M. C.; SNIDER, D. E.; KOCHI, A. Global epidemiology of tuberculosis: morbidity and mortality of a worldwide epidemic. **JAMA**, v.273, p.220-226, 1995.

REBHUM, W. C. **Doenças do gado leiteiro**, v.1, 1ed., São Paulo, Roca, p.583-586, 2000.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. 3ed. v.1. p.432-442, 2007.

SARREL, M. A **History of tuberculosis: communicable disease service tuberculosis control program**. Disponível em:

<http://www.state.nj.us/health/cd/tbhistory.htm>. Acessado em 14 de julho de 2009.

SEVA, J. V.; MENCHÉN, J. A.; NAVARRO, F. J.; PALLARÉS, D. V.; VÁSQUEZ, F.; BERNABÉ, A. Caprine tuberculosis eradication program: an immunohistochemical study. **Small Ruminant Research**, v.46, p.107-114, 2002.

SILVA, P. E. G.; PINHEIRO, S. R.; LEAL, M. L. R.; BERTAGNON, H. G.; MOTTA, P. M. P. C.; SINHORINI, I. L.; VASCONCELLOS, S. A.; BENESI, F. J. Teste de tuberculização em caprinos (*Capra hircus*) experimentalmente sensibilizados. **Ciência Rural**, v.36, n.3, p. 880-6, 2006

SILVA, P. E. A.; OSÓRIO, M.; REINHARDT, M. C.; FONSECA, L. S.; DELLAGOSTIN, O. A. Drug resistance of strains of *mycobacterium tuberculosis* isolated in Brazil. **Microbes and Infection**, v.3, p.1111-3, 2001.

SILVA, R. R. **Agribusiness do leite de cabra**. Salvador: SEBRAE, 63p., 1998.

VILLEMIN, J. A. **Estudes experimentales et cliniques sur tuberculose**. Paris: **Bailliere et Fils.**, 1868.

ZACARÍAS, F.; GONZÁLES, R. S.; CUCHÍ, P.; YÁÑEZ, A.; PERUGA, A.; MAZÍN, R.; BETTS, C.; WEISSENBACHER, M. HIV/AIDS and its interaction with tuberculosis in Latin America and the Caribbean. **Bull. Pan. Am. Health organ.**, 28:312-23, 1994.

O presente trabalho foi formatado segundo as normas da Revista Pesquisa Veterinária Brasileira, de acordo com o que estabelece a Norma nº 01/2009 de 04 de Fevereiro de 2009, do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural – Campus de Patos-PB.

CAPÍTULO II

ISOLAMENTO DE MICOBACTÉRIAS EM CAPRINOS E OVINOS ABATIDOS NO SEMIÁRIDO DA PARAÍBA, BRASIL.

Isolamento de micobactérias em caprinos e ovinos abatidos no semiárido da Paraíba, Brasil¹.

Severino Silvano dos Santos Higino², Sônia Regina Pinheiro³, Vivianne Cambuí Mesquita Rocha³, Gisele Oliveira de Souza³, Roseane de Araújo Portela², Cristina Corsi Dib³, Tatiana Reis do Rosário³, Priscilla Anne Melville³, Clebert José Alves², Silvio Arruda Vasconcellos³, Sérgio Santos de Azevedo²

ABSTRACT. - Higino S.S.S., Pinheiro S.R., Rocha V.C.M., Souza G.O., Portela R.A., Dib C.C., Rosário T.R., Melville P.A., Alves C.J., Vasconcellos S.A. & Azevedo S.S. 2010. [Tuberculosis in goats and sheep slaughtered in the semiarid of the Paraíba state, Brazil.] Tuberculose em caprinos e ovinos abatidos no semiárido da Paraíba, Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, 58.700-970, Brazil. E-mail: sergio.azevedo@pq.cnpq.br.

The aim of this work was to isolate and characterize microorganisms in hypertrophied lymph nodes or gross lesions suggestive of tuberculosis collected from 12 goats and 28 sheep slaughtered at the public slaughterhouse of Patos municipality, Paraíba

¹ Recebido em ...

Aceito para publicação em ...

² Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária (UAMV), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB, 58700-970, Brasil. *Autor para correspondência: sergio.azevedo@pq.cnpq.br.

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, Butantã, São Paulo, SP, 05508-270, Brasil.

state, in the Northeast region of Brazil. The identification of mycobacteria was performed with the PRA method (PCR-Restriction Enzyme Analysis). Histopathological examination of lesions was also performed. Organs affected were liver, lung, mammary gland, bladder and mediastinal, mesenteric, submandibular, parotid, popliteal, precrural, prescapular and superficial inguinal lymph nodes. Histopathologic examination showed the presence of granulomas in eight (20%) animals. Of the 12 goats used, one (8.33%) was positive in the culture of mycobacteria, and by PRA method the isolate was classified as belonging to the *M. tuberculosis* complex. Two sheep (7.14%) were positive for the presence of environmental mycobacteria. There was isolation of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in eight (66.66%) goats and 17 (60.71%) sheep, and simultaneous isolation of mycobacteria and *C. pseudotuberculosis* in one (8.33%) goat and in one (3.57%) sheep. The isolation of mycobacteria of the *M. tuberculosis* complex in goats in this study raises concerns of public health, as professionals involved in handling these animals and the meat and milk consumers are exposed to the risk of infection.

INDEX TERMS: Mycobacteriosis, *Mycobacterium tuberculosis* complex, small ruminants, isolation.

RESUMO.- O objetivo do presente trabalho foi isolar e tipificar microorganismos presentes em linfonodos hipertrofiados ou lesões macroscópicas sugestivas de tuberculose colhidos de 12 caprinos e 28 ovinos abatidos no matadouro público do município de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. A identificação de micobactérias foi feita com o método PRA (PCR-Restriction Enzyme Analysis). Também foi realizado o exame histopatológico das lesões. Os órgãos afetados foram fígado, pulmão, glândula mamária, bexiga e linfonodos mediastínicos, mesentéricos, submandibulares, parotídeos, poplíteos, pré-crural, pré-

escapular e inguinal superficial. O exame histopatológico apontou a presença de granulomas em oito (20%) animais. Dos 12 caprinos utilizados, um (8,33%) foi positivo no cultivo de micobactérias, e pelo método PRA o isolado foi classificado como pertencente ao complexo *M. tuberculosis*. Dois ovinos (7,14%) foram positivos para a presença de micobactérias ambientais. Houve isolamento de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em oito (66,66%) caprinos e em 17 (60,71%) ovinos, e isolamento simultâneo de micobactérias e *C. pseudotuberculosis* em um (8,33%) caprino e em um (3,57%) ovino. O isolamento de micobactéria do complexo *M. tuberculosis* em caprinos no presente artigo levanta preocupações do ponto de vista de saúde pública, uma vez que profissionais envolvidos na manipulação desses animais, bem como a população consumidora de carne e leite, estão expostos ao risco de infecção

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Micobacteriose, complexo *Mycobacterium tuberculosis*, pequenos ruminantes, isolamento.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui grande extensão territorial, oferece ótimas condições para a criação de caprinos e ovinos e está colocado entre os dez países que possuem os maiores rebanhos dessas espécies no mundo. Seus rebanhos somados representam 25 milhões de cabeças, equivalente a 2,8 % do efetivo mundial, que é de aproximadamente 900 milhões de animais (Brasil 2007).

A ovinocultura vem se expandindo há muito tempo e diversificando a sua exploração. Em condições criatórias brasileiras, antigamente os ovinos eram utilizados apenas para a subsistência familiar, particularmente para produção de lã e carne. Com a evolução da seleção genética e o desenvolvimento tecnológico percebeu-se que esta

espécie poderia ser uma fonte valiosa de renda, não só pela comercialização de seus produtos tradicionais (Brito et al. 2006).

Já os caprinos concentram sua maior população na região Nordeste (aproximadamente 90% do rebanho) e têm como principais funções econômicas a produção de carne e pele, diferente de outros países, nos quais o produto mais explorado é o leite, devido ao grande potencial desses animais (Quintans 1995, Cordeiro 1998).

Apesar do sistema de criação voltado para a subsistência, nos últimos anos ocorreram mudanças significativas para a consolidação da cadeia produtiva da ovinocaprinocultura no Brasil. Nesse período, a atividade despertou maior atenção de governantes, técnicos e produtores, acarretando mudanças significativas, destacando-se a intensificação da pesquisa voltada para produção de animais e beneficiamento de seus produtos, crescimento do nível de organização dos produtores, aumento da absorção das novas tecnologias, maior atuação dos agentes financeiros para facilitar o acesso ao crédito e, o mais importante, aumento da demanda por produtos derivados de caprinos e ovinos (Silva 1998). Entretanto, apesar do impulso mercadológico, a produtividade da ovinocaprinocultura no Brasil ainda é baixa.

Uma das razões está no regime de manejo da exploração predominantemente extensiva e rudimentar, com alta dependência da vegetação nativa, utilização de raças não especializadas, assistência técnica deficitária, baixo nível de organização e de gestão da unidade produtiva e, sobretudo, carece de controle sanitário efetivo. Desta forma, este mercado vem exigindo maior preocupação sanitária através de medidas de biossegurança com exames diagnósticos rápidos e confiáveis. Neste contexto, o estudo da tuberculose é relevante devido às perdas econômicas ocasionadas e a possibilidade de transmissão para os seres humanos. Some-se a isso o fato de que a endemia da infecção pelo HIV é um significativo obstáculo para o controle de *Mycobacterium bovis* em vários países, tendo em

vista que o número de casos de tuberculose humana por *M. bovis* vem aumentando nas últimas décadas (Thoen et al. 2006).

A tuberculose caprina é semelhante à bovina (Corrêa 1975), mas Cordes et al. (1981), em estudo sobre a observação da tuberculose causada por *M. bovis*, sugeriram que a baixa incidência da tuberculose nesta espécie possa ter ocorrido devido a falhas no diagnóstico, pois a linfadenite caseosa apresenta lesões macroscópicas semelhantes às da tuberculose. Tendo em vista que a linfadenite tem ampla distribuição no Brasil e acomete os caprinos (Langenneger et al. 1991), este fato também poderia estar ocorrendo em nossas criações.

Dessa maneira, o objetivo do presente trabalho foi isolar e tipificar microorganismos presentes em linfonodos hipertrofiados ou lesões macroscópicas sugestivas de tuberculose em caprinos e ovinos abatidos no matadouro público do município de Patos, Paraíba.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e colheita de amostras

Foram utilizadas amostras clínicas provenientes de 12 caprinos e 28 ovinos abatidos no matadouro público do município de Patos, semiárido da Paraíba, que apresentavam lesões granulomatosas ou linfonodos hipertrofiados seja externa ou internamente no período de novembro de 2008 a maio de 2009.

Dos animais que apresentaram qualquer lesão sugestiva (Fig. 1), foram colhidos os próprios abscessos bem como os linfonodos acometidos. Os materiais foram colhidos de maneira asséptica e acondicionados em sacos plásticos estéreis individuais e encaminhados em caixa isotérmica contendo gelo ao laboratório.

Isolamento e identificação de micobactérias

Os fragmentos de órgãos e lesões colhidos para a bacteriologia foram mantidos sob refrigeração e encaminhados ao Laboratório de Zoonoses Bacterianas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - USP, onde foram processados visando o isolamento de micobactérias. O procedimento consistiu na homogeneização das lesões com posterior descontaminação pelo método de Petroff, semeadura nos meios de Lowenstein-Jensen e Stonebrink-Leslie e incubação a 37°C por até 90 dias (CPZ 1973). As colônias com características sugestivas de micobactérias foram fixadas em lâmina de vidro e coradas pelo método de Ziehl-Nielsen (CPZ 1972) para pesquisa de BAAR (Bacilos Álcool-Ácido Resistentes). Das amostras BAAR positivas foi utilizado o método de CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio), segundo Kremer et al. (1999), para o isolamento e purificação do DNA das micobactérias, seguida da identificação pelo método PRA (PCR-Restriction Enzyme Analysis) (Telenti et al. 1993).

O método PRA consiste na utilização dos primers Tb11: (5'-ACCAACGATGGTGTGTCCAT) e Tb12: (5'-CTTGTCGAACCGCATAACCCT) que amplificam um fragmento de 439 bp, caracterizando a amostra como pertencente ao gênero *Mycobacterium*, com posterior utilização de enzimas de restrição (*BstEII* e *HaeIII*), que cortam o DNA em fragmentos com determinada seqüência de bases. O produto destes cortes no DNA produz fragmentos de diferentes tamanhos, que são separados de acordo com o seu peso molecular, por eletroforese em ágar gel de alta resolução, possibilitando por meio de chaves de classificação, a diferenciação de diferentes espécies e subespécies de micobactérias (Telenti et al. 1993).

Isolamento e identificação de outras bactérias

O conteúdo caseoso das lesões foi semeado em ágar-sangue, ágar manitol, sabouraud dextrose e macconkey e incubado a 37°C em aerobiose. As placas eram examinadas após 24 a 48 horas (Silva et al. 1982). Para a identificação dos agentes, foram utilizados coloração de gram, reação de catalase e provas bioquímicas (Trabulsi 2004).

Exame histopatológico

As amostras foram fixadas em formol tamponado a 10%, clivadas e processadas rotineiramente para confecção de lâminas histopatológicas coradas com Hematoxilina e Eosina (HE) e Ziehl-Neelsen, seguindo-se a técnica de Behmer et al. (1976).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as amostras analisadas de ambas as espécies foram observadas lesões nodulares bem delimitadas com material caseoso ao centro, distribuído focalmente, multifocalmente e coalescente, afetando fígado, pulmão, glândula mamária, bexiga e linfonodos mediastínicos, mesentéricos, submandibulares, parotídeos, poplíteos, pré-crural, pré-escapular e inguinal superficial. Em oito amostras as áreas centrais ao corte estavam enrijecidas e esbranquiçadas (Fig. 2). Histologicamente, em oito (20%) animais, as lesões foram caracterizadas como granulomas compostos por centro necrótico e focos de mineralização, margeado por camadas laminares constituídas por infiltrado inflamatório primeiramente de neutrófilos degenerados seguidos por macrófagos epitelióides, células gigantes e uma espessa lamina de linfócitos e plasmócitos entremeados em tecido

conjuntivo frouxamente organizado, delimitadas por uma cápsula densa de tecido conjuntivo (Figs. 3 e 4).

Dos 12 caprinos investigados, um (8,33%) foi positivo no cultivo de micobactérias cultivando-se o conteúdo caseoso do linfonodo submandibular, e pelo método PRA o isolado foi classificado como pertencente ao complexo *M. tuberculosis* (Instituto Pasteur 2000) (Quadro 1), que compreende as espécies patogênicas. Nas Figuras 5, 6 e 7 são apresentados os resultados do PRA. Dado o número de caprinos utilizados (n = 12), essa frequência de infecção pode ser considerada alta e levanta preocupações do ponto de vista de saúde pública, uma vez que se trata de uma importante zoonose, e indica que indivíduos que lidam diretamente com os animais e derivados, como tratadores e magarefes, estão expostos ao risco de infecção.

Some-se a isso o fato de que a frequência real de animais infectados pode estar subestimada, pois segundo Corner (1994), para bovinos, essa frequência pode ser duplicada porque a inspeção de rotina só identifica cerca de 47% das lesões macroscopicamente detectáveis. No presente trabalho, foram colhidas lesões apenas de animais suspeitos deixando-se de considerar animais tuberculosos que não apresentam lesões detectáveis ao exame *post-mortem* (Baptista et al. 2004).

A tuberculose em caprinos, tida até pouco tempo como inexistente, também foi descrita no estado de São Paulo por Benesi et al. (2008) em uma cabra da raça Saanen que apresentava lesões sugestivas, sintomatologia clínica e positividade ao teste cervical comparativo, sendo o diagnóstico confirmado posteriormente com o isolamento e tipificação do *M. bovis*. Pinheiro et al. (2007) relataram um surto de tuberculose caprina em Minas Gerais, onde os animais reagentes a prova da tuberculina apresentaram lesões sugestivas à necropsia e foram positivos no isolamento do agente. Pignata et al. (2009) utilizaram caprinos da microrregião do Cariri Ocidental paraibano e detectaram a presença

de animais com lesões compatíveis com tuberculose, bem como isolaram micobactérias e identificaram a presença de bacilos álcool-ácido resistentes na bacterioscopia direta.

Entre os 28 ovinos investigados, em dois (7,14%) foi confirmada a infecção por micobactérias ambientais (Quadro 1). Marcondes (2007) utilizou 57 ovinos da região de Pindamonhangaba e obtiveram isolamento de micobactérias em sete animais, sendo micobactérias ambientais em seis e micobactérias do complexo *M. tuberculosis* em um animal. Uma possível explicação para essa maior frequência de micobactérias ambientais em ovinos é que os mesmos pastejam rente o solo, de maneira que a probabilidade de ingestão de micobactérias ambientais, que têm como habitat o solo, água, poeiras e aerossóis (Falkinhan III 1996), é maior.

Dos caprinos pesquisados houve isolamento de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em oito (66,66%), havendo isolamento simultâneo de micobactérias e de *C. pseudotuberculosis* em um animal (8,33%). Já nos ovinos houve isolamento de *C. pseudotuberculosis* em 17 (60,71%), também havendo isolamento simultâneo de micobactérias e de *C. pseudotuberculosis* em um animal (3,57%). Esses achados foram semelhantes aos de Marcondes (2007) que detectou 3,5% (2/57) de isolamentos simultâneos do agente causador da linfadenite caseosa junto com micobactérias. Ainda na mesma pesquisa o autor verificou que os órgãos mais afetados foram o fígado, linfonodo submandibular, intestino, pulmão, linfonodo mediastino e glândula mamária, resultado semelhante ao do presente estudo, onde os órgãos mais afetados foram também o fígado e os linfonodos submandibulares.

Nos exames macroscópico as lesões provocadas por micobactérias ambientais e *C. pseudotuberculosis* não foram diferenciáveis das provocadas pelo complexo *M. tuberculosis* tanto nos caprinos como nos ovinos, resultados igualmente encontrados por Marcondes (2007), que referiu que as lesões causadas por *M. flavescens* 1, *M. kansasii*, e

C. pseudotuberculosis não puderam ser diferenciadas. No Brasil, a linfadenite caseosa dos ovinos e caprinos é importante para os criadores em decorrência das perdas econômicas, e está amplamente disseminada nas criações (Riet-Correa et al. 2001). Devido as lesões causadas por *C. pseudotuberculosis* serem semelhantes às aquelas causadas por micobactérias, há a necessidade de se aprimorar o diagnóstico diferencial entre as duas infecções (Marcondes 2007).

A ausência de micobactérias ocorrida em 37 (92,5%) das amostras com lesões típicas ou sugestivas de tuberculose pode estar associada, segundo Balian et al. (1997) a três hipóteses: deficiência do método de isolamento com morte na descontaminação ou dificuldade de se multiplicar no cultivo, a morte das micobactérias após promover a lesão, pela defesa do próprio organismo, ou a lesão causada por outro tipo de microrganismo. Sendo recomendada desta forma a implantação de teste diagnósticos rápidos e confiáveis nos matadouros como as provas moleculares. O gênero *Mycobacterium* é altamente exigente no que se refere a nutrientes, quando comparados com outras bactérias patogênicas como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* entre outras enterobactérias. Tais características facilitam a multiplicação anterior de contaminantes menos exigentes, tornando indispensável a aplicação de um tratamento das amostras previamente à tentativa de isolamento das micobactérias (Balian et al. 2002).

Conforme Gutiérrez et al. (1995) e Ramirez et al. (2003), os caprinos são muito susceptíveis a tuberculose, por isso têm sido apontados como um bom modelo animal para estudos de patogenicidade e patologia da tuberculose. Os autores reforçam ainda que estudos moleculares são imprescindíveis para a erradicação da tuberculose caprina.

CONCLUSÃO

Foi isolada micobactéria do complexo *M. tuberculosis* em caprinos abatidos no semiárido do Estado da Paraíba, bem como foram detectadas micobactérias ambientais em ovinos, o que levanta preocupações do ponto de vista de saúde pública, uma vez que profissionais envolvidos na manipulação desses animais, bem como a população consumidora da carne e leite, estão expostos ao risco de infecção.

Foi isolado *Corynebacterium pseudotuberculosis* em 25 dos 40 animais, reforçando a tese de que esta doença ainda está bastante difundida nos rebanhos do semiárido brasileiro.

RECOMENDAÇÕES

Com base no presente estudo recomenda-se a implantação de testes diagnósticos rápidos e confiáveis para o diagnóstico da tuberculose e outras micobacterioses em matadouros como provas moleculares .

Também torna-se importante a conscientização por parte das autoridades sanitárias acerca da implantação de medidas de prevenção adequadas com o objetivo de impedir, ou pelo menos diminuir, a disseminação da tuberculose em caprinos e, conseqüentemente, bloquear a possível transmissão do agente para os seres humanos.

REFERÊNCIAS

Baptista F., Moreira E.C.; Santos W.L.M., Naveda L.A.B. 2004. Prevalência da tuberculose em bovinos abatidos em Minas Gerais. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 56(5):577-580.

Ballian S.C., Pinheiro S.R., Guerra J.L., Morais Z.M., Ferreira F., Ferreira Neto J.S., 2002. Estudo comparativo de dois métodos de descontaminação na pesquisa de Micobactérias, *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 69(2):11-4.

Balian S.C; Ribeiro P., Vasconcellos S.A., Pinheiro S.R., Ferreira-Neto J.S., Guerra J.L. 1997. Linfadenites tuberculóides em suínos abatidos no Estado de São Paulo, Brasil: aspectos macroscópicos, histopatológicos e pesquisa de micobactérias. *Rev. Saúde Pública*, 31:391-7.

Benesi F.J., Pinheiro S.R., Maiorka P.C., Sakamoto S.M., Roxo E., Benites N.R., Birgel Junior E.H., Gregory L. 2008. Relato de caso: Tuberculose em Caprino (*Capra hircus*), *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, (2):217-220.

Behmer O.A., Tolosa E.M.C., Freitas Neto A.G. 1976. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. Edart, EDUSP, São Paulo, 259 p.

Brasil 2007. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Pesquisa da Pecuária Municipal. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=73&z=t&o=20>>. Acesso em 19 agosto de 2009.

Brito M.A. Gonzáles F.D, Ribeiro L.A, Campos R, Lacerda L, Barbosa P.R, Bergmann G. 2006. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. *Ciência Rural*, 6(3):942-48.

Centro Panamericano de Zoonosis. Diagnóstico de laboratorio de la tuberculosis animal. 1972. Buenos Aires, 48 p. (Nota técnica, 26).

Centro Panamericano de Zoonosis. 1973. Métodos de laboratorio de micobacteriología veterinaria para el aislamiento e identificación de micobacterias. Buenos Aires, 48p. (serie de monografías científicas y técnicas, 6).

Cordeiro P.R.C. 1998. O desenvolvimento econômico da caprinocultura leiteira. Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária, 4(13):28-30.

Cordes D.O., Bullians J.A., Lake D.E., Carter M.E. 1981. Observations on tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in sheep. New Zealand Veterinary Journal, 29(4):60-62.

Corner L.A. 1994. Post-mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. Vet. Microbiol., 40:53-63.

Corrêa O. 1975. Doenças infecciosas dos animais domésticos: doenças causadas por bactérias e fungos. 2ed, Freitas Bastos: Rio de Janeiro, 2:61.

Falkinhan III, J.O. 1996. Epidemiology of Infection by Nontuberculosis Micobacteria. Clinical Microbiology Reviews. 9(2):177-215.

Gutiérrez, M., Samper S., Gavigan J.A., Garcia M.J.F., Martin C.. 1995. Differentiation by Molecular Typing of *Mycobacterium bovis* Strains Causing Tuberculosis in Cattle and Goats, Journal of Clinical Microbiology, 33(11):2953-6.

Institut Pasteur. Identification of Mycobacteria. 2000. Disponível em <
<http://app.chuv.ch/prasite/index.html> > Acessado em 25 de novembro de 2008.

Kremer K., Van Sooligen D., Frothingham R., Haas W.H., Hermans P.W.M., Martin C., Palittapongarnpim P., Plikaytis B.B., Riley L.W., Yakrus M.A., Musser J.M., Van Embden J.D.A. 1999. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of Mycobacterium tuberculosis strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility. *Journal of Clinical Microbiology*, 37:2607-18.

Langenneger C.H., Langenneger J., Cherer P.O. 1991. Prevalência e diagnóstico comparativo da linfadenite caseosa em caprinos do estado do Rio de Janeiro, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 11(1/2):25-27.

Marcondes A.G., 2007. Micobacterioses em ovinos (*Ovis aries*). Correlação entre teste imunoalérgico, cultivo e histopatológico. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Pignata W.A., Alves C.J., Azevedo S.S., Dantas A.F.M., Gomes A.A.B., Remígio F.R., Lima F. S. 2009. Prevalência da tuberculose caprina no semi-árido paraibano. *Pesq. Vet. Bras.* 29(7):526-532.

Pinheiro S.R., Roxo E., Almeida C.A.S., Vasconcellos S.A., Silvantos M.C., Maiorka P.C., Melville A.M.P., Benites N.R., Paes A.C. 2007. Surto de tuberculose em caprinos

(*Capra hircus*): relato de caso. In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, Campo Grande, MS. Anais. Campo Grande, 13:34.

Quintans L.J. 1995. Estudo de mercado e de localização – Usina de Desidratação de Leite de Cabras. Microrregião homogênea do Cariri Ocidental. Plano de Desenvolvimento Local Integrado. João Pessoa, 104p.

Ramirez I. C., Santillan M. A., Dante V. 2003. The goat as an experimental ruminant model for tuberculosis infection, Mexico, Small Ruminant Research 47:113–6.

Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A., Borges J.R.J. 2001. Doenças de Ruminantes e eqüinos. 1(3):432-42.

Silva R.R. 1998. Agribusiness do leite de cabra. Salvador: SEBRAE, 63p.

Silva S.F., Santos A.F., Lauzer J.J., Costa D.F. 1982. Linfadenite caseosa em caprinos na região do sertão de Pernambuco, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14ed. Anais, sociedade brasileira de medicina veterinária, São Paulo, p.155.

Telenti A., Marchesi F., Balz M., Bally F., Böttger E.C., Bodmer T. 1993. Rapid identification of Mycobacteria to the species level by Polymerase Chain Reaction and Restriction Enzyme Analysis. Journal of Clinical Microbiology, 31(2)175-178.

Thoen C., LoBue P., Kantor I. 2006. The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis. *Veterinary Microbiology* 112:339–45.

Trabulsi L.R., Alterthum F. 2004. *Microbiologia*. Rio de Janeiro, Atheneu, 4:230-42.

Quadro 1. Caprinos e ovinos abatidos no matadouro público do município de Patos, Paraíba, segundo identificação do animal, espécie, locais com lesões e agente etiológico isolado, no período de novembro de 2008 a maio de 2009

Número do animal	Espécie	Locais com lesões	Agente isolado
1	Caprina	Glandula mamária	<i>C. pseudotuberculosis</i>
2	Ovina	Linfonodo mesentérico	Crescimento ausente
3	Ovina	Linfonodo pré-crural	<i>C. pseudotuberculosis</i>
4	Ovina	Pulmão	<i>C. pseudotuberculosis</i>
5	Caprina	Pulmão/linfonodo mediastínico	<i>C. pseudotuberculosis</i>
6	Ovina	Fígado/linfonodo parotídeo	Crescimento ausente
7	Ovina	Linfonodo pré-crural	<i>C. pseudotuberculosis</i>
8	Ovina	Linfonodo pré-escapular	<i>C. pseudotuberculosis</i>
9	Ovina	Pulmão/linfonodo parotídeo	Crescimento ausente
10	Ovina	Linfonodo submandibular/parotídeo	<i>C. pseudotuberculosis</i>
11	Ovina	Fígado	<i>C. pseudotuberculosis</i>
12	Ovina	Fígado/pulmão	<i>C. pseudotuberculosis</i>
13	Ovina	Fígado/pulmão/linfonodos mesentérico e mediastínico	<i>C. pseudotuberculosis</i> Micobactéria ambiental
14	Caprina	Linfonodos mesentérico	<i>C. pseudotuberculosis</i>
15	Ovina	Linfonodo pré-escapular	<i>C. pseudotuberculosis</i>
16	Ovina	Fígado	<i>C. pseudotuberculosis</i>
17	Ovina	Pulmão	<i>C. pseudotuberculosis</i>
18	Ovina	Fígado	Crescimento ausente
19	Caprina	Fígado/ linfonodo mediastínico	<i>C. pseudotuberculosis</i>
20	Ovina	Linfonodo inguinal superficial	<i>C. pseudotuberculosis</i>
21	Caprina	Linfonodo mediastínico	<i>C. pseudotuberculosis</i>
22	Ovina	Fígado	Crescimento ausente
23	Caprina	Linfonodo pré-escapular	<i>C. pseudotuberculosis</i>
24	Caprina	Linfonodo mediastínico	Crescimento ausente
25	Caprina	Linfonodo pré-escapular	Crescimento ausente
26	Caprina	Linfonodo mesentérico	Crescimento ausente
27	Ovina	Pilar do diafragma	Crescimento ausente
28	Caprina	Glândula mamária	Crescimento ausente
29	Ovina	Fígado	Crescimento ausente
30	Ovina	Bexiga	Crescimento ausente

31	Caprina	Linfonodo submandibular	<i>C. pseudotuberculosis</i> Complexo <i>M.tuberculosis</i>
32	Ovina	Fígado/linfonodo mediastínico	Crescimento ausente
33	Ovina	Linfonodo parotídeo	<i>C. pseudotuberculosis</i>
34	Ovina	Linfonodo poplíteo	<i>C. pseudotuberculosis</i>
35	Ovina	Linfonodo parotídeo	<i>C. pseudotuberculosis</i>
36	Caprina	Linfonodo parotídeo	<i>C. pseudotuberculosis</i>
37	Ovina	Glândula mamária	Crescimento ausente
38	Ovina	Linfonodo submandibular	<i>C. pseudotuberculosis</i>
39	Ovina	Linfonodo parotídeo	<i>C. pseudotuberculosis</i>
40	Ovina	Linfonodo submandibular	Micobactéria ambiental



Fig. 1. Caprino com linfonodo pré-escapular hipertrofiado.

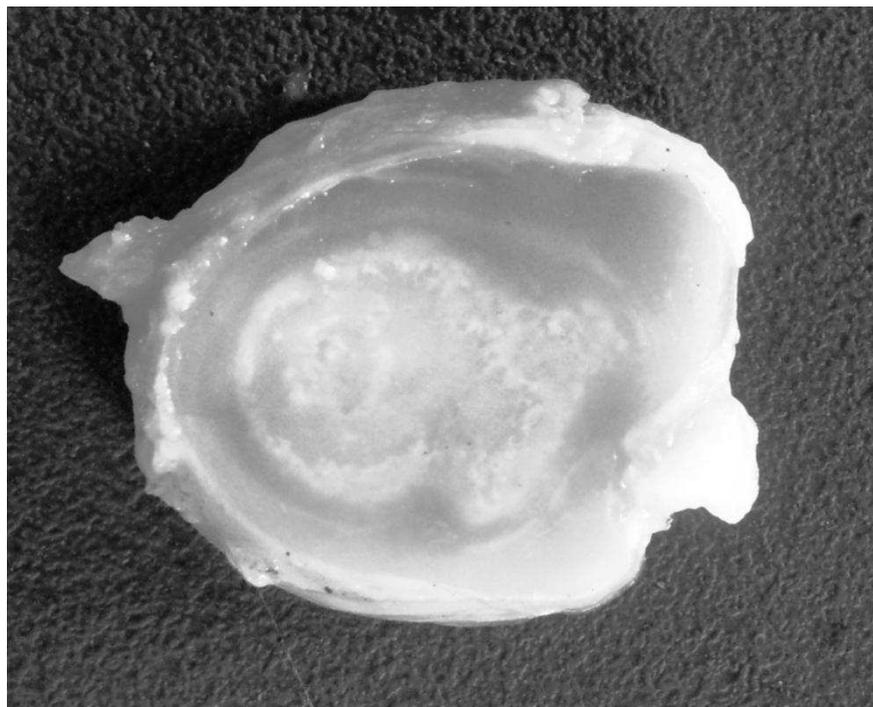


Fig. 2. Abscesso com área central esbranquiçada e enrijecida ao corte, indicativo de calcificação.

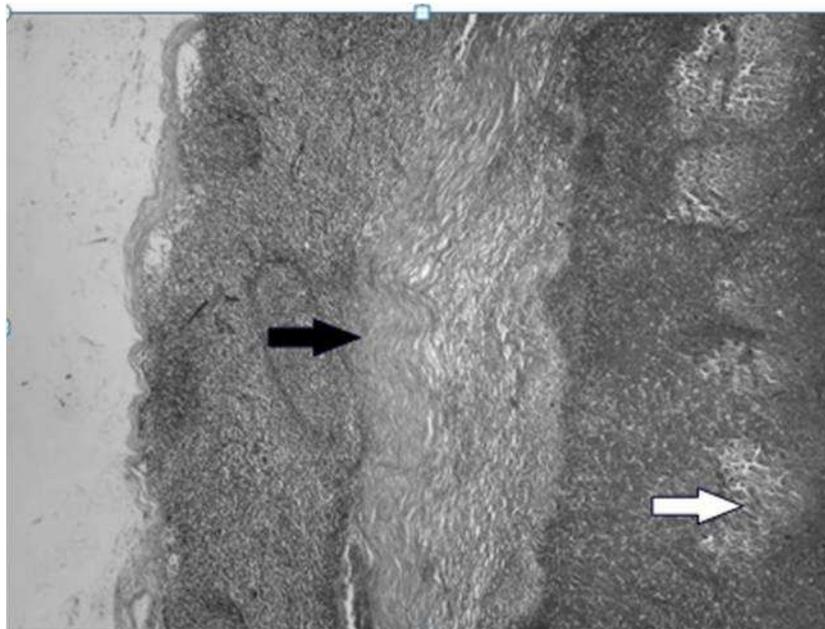


Fig. 3. Linfonodo Mediastínico. Observa-se área necrótica central com restos celulares e focos de mineralização (seta branca) seguida por camadas laminares de infiltrado inflamatório delimitado por uma densa cápsula de tecido conjuntivo (seta preta) comprimindo o tecido normal adjacente. Obj.20x. HE.

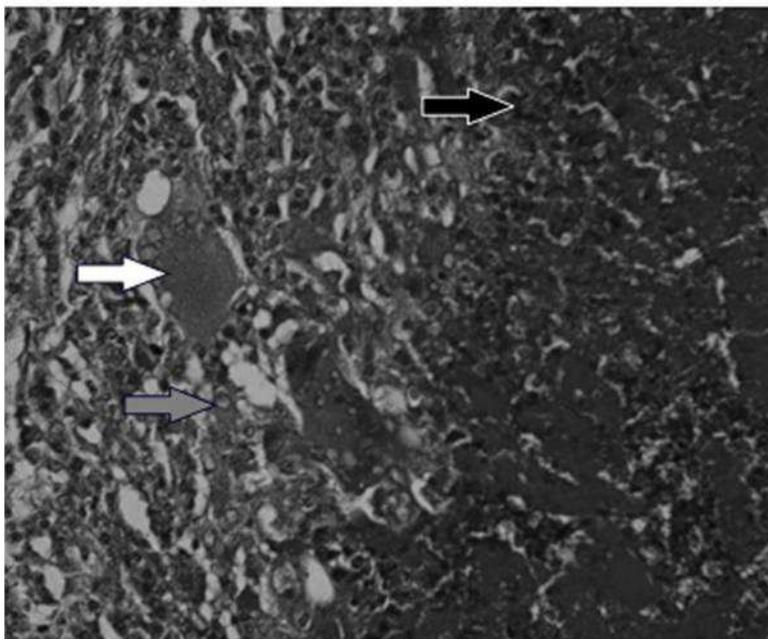


Fig. 4. Linfonodo submandibular. Observa-se área necrótica margeada por infiltrado inflamatório de neutrófilos degenerados (seta preta), seguida uma camada de macrófagos epitelióides (seta cinza) e células gigantes (seta branca), Obj. 40x. HE.



Fig. 5. Resultado da eletroforese em gel de agarose mostrando a amplificação realizada com os primers Tb11 e Tb12, caracterizando a amostra como pertencente ao gênero *Mycobacterium*. 100, 50, 25 = marcador molecular; AN5 = amostra padrão; 2 = amostra analisada; C- = controle negativo.

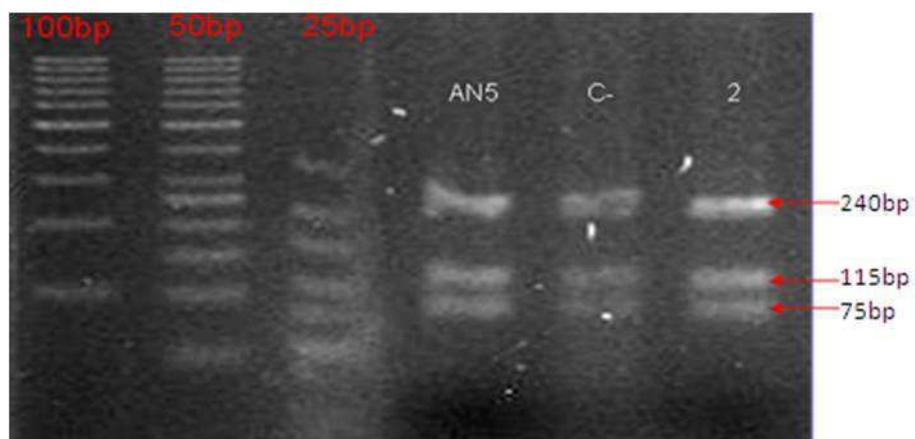


Fig.6. Eletroforese em gel de agarose mostrando fragmentos de 240, 115 e 75bp gerados pela digestão do amplificado de 439bp, específico do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, pela enzima de restrição *BstEII*. 100, 50, 25 = marcadores moleculares; AN5 = amostra padrão; 2 = amostra analisada; C- = controle negativo.

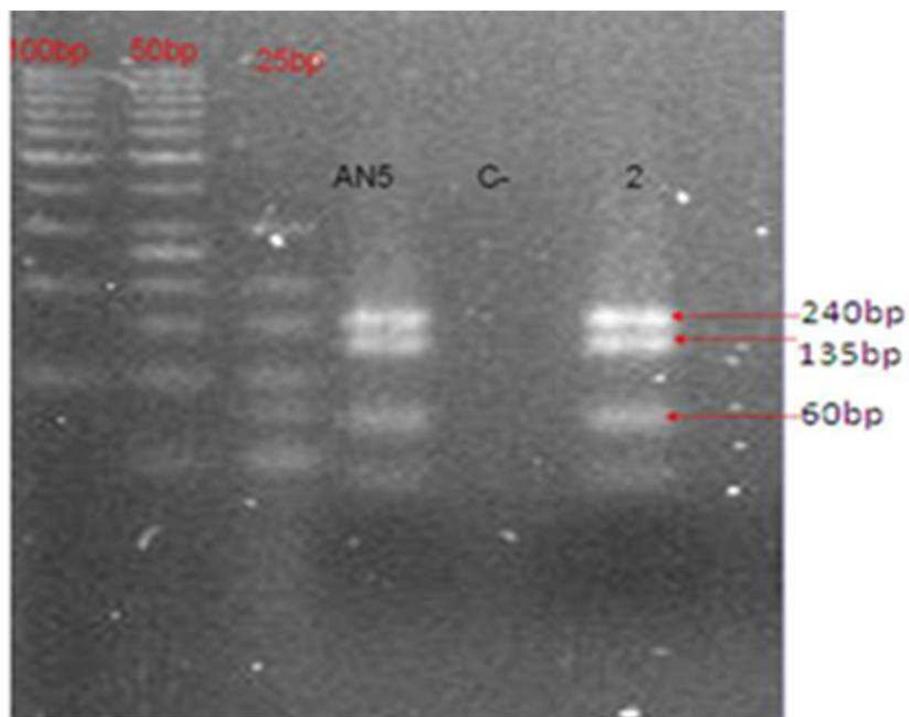


Fig.7. Eletroforese em gel de agarose mostrando fragmentos de 240, 135 e 60bp gerados pela digestão do amplificado de 439bp, específico do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, pela enzima de restrição *HaeIII*. 100, 50, 25 = marcadores moleculares; AN5 = amostra padrão; C- = controle negativo; 2 = amostra analisada.

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Objetivo e política editorial

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

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

Apesar de não serem aceitas comunicações ("Short communications") sob forma de "Notas Científicas", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve porém conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo.

Os trabalhos, em 3 vias, escritos em português ou inglês, devem ser enviados, junto com disquete de arquivos (de preferência em Word 7.0), ao [editor](#) da revista **Pesquisa Veterinária Brasileira**, no endereço abaixo. Devem constituir-se de resultados ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, os [editores](#), com a assistência da [Assessoria Científica](#), reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias.

Apresentação de manuscritos

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em **Título, Abstract, Resumo, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões** (ou combinações destes três últimos), **Agradecimentos e Referências**:

- a) o **Título** do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho;
- b) um **Abstract**, um resumo em inglês, deverá ser apresentado com os elementos constituintes observados nos artigos em português, publicados no último número da revista, ficando em branco apenas a paginação, e, no final, terá indicação dos *index terms*;
- c) o **Resumo** deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, dando os mais importantes resultados e conclusões; será seguida da indicação dos termos de indexação; nos trabalhos em inglês, **Resumo** e **Abstract** trocam de posição e de constituição (veja-se como exemplo sempre o último fascículo da revista);
- d) a **Introdução** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;
- e) em **Material e Métodos** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores;
- f) em **Resultados** deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos; quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições; é conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos, ao invés de apresentá-los em quadros extensos;
- g) na **Discussão** os resultados devem ser discutidos diante da literatura; não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;
- h) as **Conclusões** devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;
- i) os **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;
- j) a lista de **Referências**, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando os nomes de todos os autores, o título de cada

publicação e, por extenso ou abreviado, o nome da revista ou obra, usando as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT, *Style Manual for Biological Journals* (American Institute for Biological Sciences) e/ou *Bibliographic Guide for Editors and Authors* (American Chemical Society, Washington, D.C.).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as normas abaixo:

a) os trabalhos devem ser apresentados em uma só face do papel, em espaço duplo e com margens de, no mínimo, 2,5 cm; o texto será escrito corridamente; quadros serão feitos em folhas separadas, usando-se papel duplo ofício, se necessário, e anexados ao final do trabalho; as folhas, ordenadas em texto, legendas, quadros e figuras, serão numeradas seguidamente;

b) a redação dos trabalhos deve ser a mais concisa possível, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados um pouco acima da linha de escrita, após a palavra ou frase que motivou a nota; essa numeração será contínua; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada; todos os quadros e todas as figuras serão mencionados no texto; estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes; Resumo e *Abstract* serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas;

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional do(s) autor(es);

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de dois autores serão citados pelos nomes de ambos, e de três ou mais, pelo nome do primeiro, seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita pelo acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos; todos os

trabalhos citados terão suas referências completas incluídas na lista própria (Referências), inclusive os que tenham sido consultados indiretamente; no texto não se fará menção do trabalho que tenha servido somente como fonte; este esclarecimento será acrescentado apenas ao final das respectivas referências, na forma: "(Citado por Fulano 19...)"; a referência do trabalho que tenha servido de fonte será incluída na lista uma só vez; a menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita, de preferência, no próprio texto, colocada em parênteses, com citação de nome(s) ou autor(es); nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Flores & Houssay 1917, Roberts 1963a,b, Perreau et al. 1968, Hanson 1971);

f) a lista das referências deverá ser apresentada com o mínimo de pontuação e isenta do uso de caixa alta, sublinhando-se apenas os nomes científicos, e sempre em conformidade com o padrão adotado no último fascículo da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As **figuras** (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) deverão ser apresentadas em tamanho maior (cerca de 150%) do que aquele em que devam ser impressas, com todas as letras ou sinais bem proporcionados para assegurar a nitidez após a redução para o tamanho desejado; parte alguma da figura será datilografada; a chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura; desenhos deverão ser feitos com tinta preta em papel branco liso ou papel vegetal, vedado o uso de papel milimetrado; cada figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte superior da figura; fotografias deverão ser apresentadas em branco e preto, em papel brilhante, e sem montagem, ou em

diapositivos (*slides*) coloridos; somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras será em cores; para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

4. As legendas explicativas das figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis e serão apresentadas em folha separada que se iniciará com o título do trabalho.

5. Os **quadros** deverão ser explicativos por si mesmos; cada um terá seu título 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, começando de *a* em cada quadro, e as notas serão lançadas logo abaixo do quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto, à esquerda.