

FLÁVIA FIGUEIRAUJO JABOUR

**DIAGNÓSTICO DE MICOBACTERIOSES E LINFADENITE CASEOSA
EM OVINOS E CAPRINOS NO LESTE ALAGOANO**

**RECIFE
2013**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

FLÁVIA FIGUEIRAUJO JABOUR

**DIAGNÓSTICO DE MICOBACTERIOSES E LINFADENITE CASEOSA
EM OVINOS E CAPRINOS NO LESTE ALAGOANO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do Grau de Doutor em Ciência Veterinária.

Orientadora: Profa. Dra. Andrea Alice da Fonseca Oliveira

Co-orientador: Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

**RECIFE
2013**

Ficha Catalográfica

J11d Jabour, Flávia Figueiraujo
Diagnóstico de micobacterioses e linfadenite caseosa em
ovinos e caprinos no leste alagoano / Flávia Figueiraujo Jabour.
-- Recife, 2013.
100 f. : il.

Orientador (a): Andrea Alice da Fonseca Oliveira.
Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina
Veterinária, Recife, 2013.
Referência.

1. Medicina preventiva 2. Patologia 3. Fatores de risco
4. Diagnóstico 5. Ovinocaprinocultura 6. Alagoas I. Oliveira,
Andrea Alice da Fonseca, Orientador II. Título

CDD 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

DIAGNÓSTICO DE MICOBACTERIOSES E LINFADENITE CASEOSA
EM OVINOS E CAPRINOS NO LESTE ALAGOANO

Tese de Doutorado elaborada por
FLÁVIA FIGUEIRAUJO JABOUR

Aprovada em 28/02/2013

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Andrea Alice da Fonseca Oliveira
Orientadora - Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof^ª Dra. Marilene de Farias Brito Queiroz
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof^ª. Dra. Márcia de Figueiredo Pereira
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. Leonildo Bento Galiza da Silva
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

DEDICATÓRIA

Às minhas filhas queridas que sempre estiveram em primeiro lugar em minha vida clareando
meus passos
“Marias” Clara e Carolina
A minha mãe rainha e eterna guerreira
Camila de Jesus Figueiraujo

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, em primeiro lugar, supremo Criador do Universo, sei que estou em falta com o senhor e que muitas vezes minha fé não foi o suficiente para enfrentar tantas dificuldades. Hoje eu agradeço por essa oportunidade e espero conseguir concluir com muito êxito...

À **minha mãe, Camila de Jesus Figueiraujo**, batalhadora, espirituosa, mulher forte e de muita fé. Agradeço-lhe por toda preocupação e por ter me dado força, coragem e sabedoria para nunca desistir...

Ao **meu pai, “in memorian”, Antônio Calil Jabour** eterno amante dos livros e dos animais, seu maior presente foi ter visto sua filha concluir o curso de Medicina Veterinária e depois ter entrado no mestrado. Infelizmente ele não esteve presente todo esse tempo em minha vida, mais sei que de alguma forma ele estará vibrando de emoção onde quer que esteja...

À **amiga e sempre querida e eterna orientadora Marilene de Farias Brito Queiroz**, pela confiança, lealdade, ensinamentos. Uma segunda mãe, que mesmo de longe sempre esteve comigo alertando-me para aquilo que é mais importante naquele momento...

À **minha orientadora Andrea Alice da Fonseca Oliveira**, que apesar de conhecê-la há pouco tempo, mostrou ser uma pessoa de muita paciência, confiança e sensibilidade. Eu ainda quero muito trabalhar contigo mesmo distante e poder ajudar de alguma forma...

Ao **meu orientador Rinaldo Aparecido Mota**, pelo carinho, amizade, confiança e ajuda incondicional. Saiba que te considero uma das pessoas mais maravilhosas e iluminadas que já apareceram em minha vida. Mais do que isso, um profissional competente que busca fazer o melhor pelos seus orientados. Tenho muita consideração pelo seu trabalho e para mim você é um dos melhores pesquisadores que já conheci. Espero continuar ao seu lado por muito tempo porque sou sincera e preciso muito de você como amigo e como profissional...

Ao Coordenador do Curso de medicina Veterinária do Cesmac **Giulliano Aires Anderlini**, pelas palavras sábias e momentos de reflexão...

Aos professores José Andreey Almeida Teles, pelos ensinamentos durante o processamento do material bacteriológico e ajuda nos trabalhos e **Francisco Feliciano da Silva Júnior** pela ajuda durante os experimentos e pelo apoio e aprendizado durante o trabalho de tuberculinização...

A **Elise Miyuki Yamasaki**, pela grande contribuição no processamento do material para realização da imunohistoquímica...

Aos amigos Flaviana Santos Wanderley e Wagner José Nascimento Porto que me trouxeram para Maceió e que sempre estiveram ao meu lado nos momentos de alegria e de tristeza. Sei que posso contar com a amizade e carinho de vocês para sempre...

Às **minhas alunas e amigas Vivina Soares Ferreira, Raissa Raposo de Menezes e Ana Paula de Castro Pires**. Vocês fazem parte da turma de ouro do Cesmac. Obrigado pela amizade, dedicação e ajuda nos trabalhos e na vida...

Aos alunos e amigos Marcus Vinícius Izidoro, Thiago de Melo Pedroza e José Pedro Vidal de Negreiros Piatti pela amizade e ajuda nas coletas e experimentos...

À **amiga Ilza Porto Maia do Espírito Santo “Ilzinha”**, que soube ficar comigo durante todo o tempo que mais precisei me proporcionando alegria e um ombro para chorar...

Enfim, agradeço a todos que participaram desses quatro longos anos, do mais graduado professor aos mais anônimos funcionários, **Anderson e Miguel**. Todos contribuíram de alguma forma para elaboração dessa tese.

“O senhor é o meu pastor e nada me faltará. Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me mansamente a águas tranqüilas. Refrigera a minha alma; guia-me pelas veredas da justiça, por amor do seu nome. Ainda que eu andasse pelo vale da sombra da morte, não temeria mal algum, porque tu estás comigo; a tua vara e o teu cajado me consolam. Preparas uma mesa perante mim na presença dos meus inimigos, unges a minha cabeça com óleo, o meu cálice transborda. Certamente que a bondade e a misericórdia me seguirão todos os dias de minha vida; e habitarei na casa do Senhor por longos dias.”

(SALMO 23).

RESUMO: Tuberculose, paratuberculose e linfadenite caseosa são doenças granulomatosas importantes que acometem várias espécies animais, incluindo ovinos e caprinos e determinam grandes prejuízos econômicos. Estas doenças possuem características clínico-patológicas semelhantes e merecem ser melhor investigadas e diferenciadas para facilitar seu controle. Objetivou-se estudar a ocorrência de doenças granulomatosas em ovinos e caprinos abatidos em um matadouro no Estado de Alagoas, além de determinar a ocorrência de tuberculose em ovinos e caprinos em propriedades rurais na região da Zona da Mata Alagoana. No primeiro estudo foram estudados 200 animais abatidos nos anos de 2009 a 2011. Destes, 39 ovinos e três caprinos apresentaram lesões macroscópicas em vários tecidos. Para o diagnóstico foram realizados exames histopatológico e bacteriológico, e imunohistoquímica. Observou-se, ao exame histopatológico, lesões intestinais compatíveis com *Oesophagostomum* sp. em ovinos e caprinos e com fasciolose no fígado de ovinos. Na imunohistoquímica todas as amostras foram negativas para *Mycobacterium* spp. Ao exame bacteriológico isolou-se *Corynebacterium pseudotuberculosis* nos tecidos de 18 ovinos (pulmão, fígado, linfonodos, intestino delgado e intestino grosso) e de um caprino (intestino grosso). Não foi diagnosticada tuberculose e paratuberculose nos animais estudados, no entanto observou-se a ocorrência de outras doenças economicamente importantes como linfadenite caseosa associada a lesões de oesofagostomose e fasciolose. No segundo estudo objetivou-se realizar o diagnóstico da tuberculose em caprinos e ovinos em três municípios da Mesorregião do Leste Alagoano. Foram tuberculinizados 275 ovinos e 45 caprinos procedentes de quatro rebanhos. Também foram aplicados questionários para estudar o perfil epidemiológico das propriedades estudadas. Todos os caprinos foram negativos ao teste tuberculínico e dois ovinos (0,72%) foram positivos, registrando-se 50% de focos da doença. Registra-se a ocorrência da tuberculose em ovinos no estado de Alagoas. Apesar da baixa frequência de casos positivos observou-se um elevado número de focos da doença. Este resultado indica que medidas de controle devem ser intensificadas para evitar a disseminação de micobactérias a outros rebanhos de ovinos e caprinos e estudos epidemiológicos semelhantes devem ser realizados em outras regiões do estado de Alagoas para investigar a ocorrência da doença e seu impacto na criação de caprinos e ovinos. Apesar de não ter sido diagnosticada a tuberculose clínica e a paratuberculose nos animais estudados, observou-se a ocorrência de outras doenças economicamente importantes como linfadenite caseosa associada a lesões de oesofagostomose e fasciolose nos animais abatidos.

Palavras chave: *Mycobacterium* sp., *Corynebacterium pseudotuberculosis*, diagnóstico, epidemiologia, pequenos ruminantes.

ABSTRACT: Tuberculosis, paratuberculosis and caseous lymphadenitis are important granulomatous diseases that affect various animal species, including sheep and goats and determine major economic losses. These diseases have similar clinical and pathological characteristics and deserve further investigation and differentiated to facilitate its control. The objective was to study to diagnose the occurrence of granulomatous diseases such as tuberculosis, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in sheep and goats slaughtered in a municipal slaughterhouse, State of Alagoas, Brazil. Two hundred animals had been slaughtered during four visits made to the slaughterhouse from 2009 to 2011. Among these two hundred animals, 39 sheep and 3 goats presented macroscopic lesions in several body tissues. Histopathological, immunohistochemistry and bacteriological exams were executed for diagnostic. Lesions in the gut compatible with alterations caused by *Oesophagostomum* sp. were found in the sheep and goats. All samples were negative in immunohistochemistry for *Mycobacterium* spp. In the bacteriological test, *Corynebacterium pseudotuberculosis* was isolated from lung, lymph nodes, small and large gut of 18 sheep and from the large gut of one goat. Alterations of tuberculosis and paratuberculosis were not observed, however lesions of other economically important diseases were found, such as caseous lymphadenitis associated with alterations of oesophagostomiasis e fascioliasis. In the second study the objective was to perform the tuberculin skin test in 275 sheep and 45 goats coming from four herds in three cities of Eastern Mesoregion of Alagoas state. We also applied a questionnaire to analyze the epidemiological profile of the properties studied. All goats were negative to the tuberculin skin test and two sheep (0.72%) were positive for two different properties (50%). Join the occurrence of tuberculosis in sheep in the state of Alagoas. Despite the lower frequency of cases there were a high number of outbreaks. This result indicates that one should intensify their efforts to control tuberculosis in these regions studied to prevent the spread of mycobacteria to other flocks of sheep and goats and similar epidemiological studies should be conducted in other regions of the state of Alagoas to investigate the occurrence of disease and your impact in sheep and goat herds.

Keywords: *Mycobacterium* sp., *Corynebacterium pseudotuberculosis*, diagnosis, epidemiology, small ruminants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigos Científicos

Artigo 1

- Figura 1A.** Intestino Delgado. Ovino. F6-11. Presença de nódulos fibrocalcários. **81**
- Figura 1B.** Focos de necrose caseosa circundados por reação granulomatosa na submucosa do intestino grosso do Ovino F6-11. HE, Obj.4x. **81**
- Figura 1C.** Intenso infiltrado inflamatório mononuclear envolvendo as camadas submucosa e muscular, com foco de necrose caseosa; no centro da lesão necrótica observa-se restos de helmintos. Ovino F61-10. HE, Obj.16x. **81**
- Figura 1D.** Mesma lesão da figura 1C, vista em maior aumento. Ovino F61-10. HE, Obj.16x. **81**
- Figura 2A.** Fígado do Ovino 33-10. Pequenos abscessos na superfície capsular. **82**
- Figura 2B.** Fígado do Ovino 36-10.Lobulação evidente e com pequenos abscessos. **82**
- Figura 2C.** Fígado de ovino com áreas de necrose caseosa circundadas por tecido conjuntivo fibroso. Ov 36-10. HE, Obj. 4x. **82**
- Figura 2D.** Ectasia de ducto biliar e presença de parasito compatível com *Fasciola hepatica* em seu lúmen. Ov 33-10. HE, Obj. 16x. **82**
- Figura 2E.** Acentuada fibrose periportal, proliferação de vias biliares e reação inflamatória rica em eosinófilos (detalhe visto na Figura 2F) compatível com lesão causada por *Fasciola hepatica*. Ov 33-10. HE, Obj. 4 **82**
- Figura 2F.** Proliferação de vias biliares e reação inflamatória rica em eosinófilos (vista aproximada da Figura 2E) compatível com lesão causada por *Fasciola hepatica*. Ov 33-10. HE, Obj. 4x. **82**

Artigo 2

- Figura 1.** Mapa da Mesorregião do Leste Alagoano identificando os municípios onde foram realizados os testes tuberculínicos nos ovinos e caprinos. **93**

LISTA DE QUADROS

Artigos Científicos

Artigo 1

- Quadro 1.** Diagnóstico baseado em lesões macroscópicas, histológicas e resultados dos exames bacteriológicos obtidos de ovinos e caprinos abatidos no Matadouro Municipal de Alagoas. **68**
- Quadro 2.** Principais lesões macroscópicas observadas em tecidos obtidos de ovinos e caprinos abatidos em matadouro municipal do Estado de Alagoas. **77**
- Quadro 3.** Principais características histopatológicas observadas em tecidos obtidos de animais abatidos em no matadouro municipal do Estado de Alagoas. **78**
- Quadro 4.** Diagnóstico baseado em lesões macroscópicas, histopatológicas e nos resultados dos exames bacteriológicos obtidos de ovinos e caprinos abatidos em matadouro municipal do Estado de Alagoas. **79**

Artigo 2

Quadro 1.

- Quadro 01** - Frequência absoluta e relativa de ovinos positivos e negativos no Teste Cervical Comparativo, distribuídos por municípios no estado de Alagoas, 2013. **93**
- Quadro 02** - Resultado dos ovinos positivos^a submetidos ao teste tuberculínico utilizando PPDa e PPDb após 72 horas da inoculação. **94**

APÊNDICE

Questionário Investigativo. Estudo epidemiológico e dos fatores de risco associado a infecção pelo <i>mycobacterium</i> sp em ovinos e caprinos	95
--	-----------

ANEXOS

Normas das revistas (Instruções aos autores)	
Artigo 1 – Pesquisa Veterinária Brasileira	96
Artigo 2 – Pesquisa Veterinária Brasileira	96

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	16
REVISÃO DE LITERATURA	19
Tuberculose	19
Paratuberculose	27
Linfadenite Caseosa	32
Referências	37
ARTIGO 1 - Doenças granulomatosas em ovinos e caprinos abatidos em matadouro municipal no Estado de Alagoas	53
Abstract e Resumo	54
Introdução	55
Material e métodos	56
Resultados	57
Discussão	59
Conclusão	62
Referências	62
ARTIGO 2 - Tuberculose em ovinos na região da Zona da Mata no Estado de Alagoas	82
Abstract e Resumo	83
Introdução	84
Material e métodos	85
Resultados	86
Discussão	86
Conclusão	89
Referências	89

INTRODUÇÃO

A caprinovinocultura tem se expandido em todos os estados brasileiros e muito tem a contribuir para o desenvolvimento socioeconômico do País, e de modo particular, da região do Nordeste que possui uma população de 10,11 milhões de ovinos e 8,5 milhões de caprinos, o que corresponde a 88% e 39% dos rebanhos do País, respectivamente. No Estado de Alagoas de acordo com o IBGE (2011), a população caprina e ovina corresponde a 67.873 e 206.743 animais, respectivamente.

De maneira geral, esses animais são explorados tradicionalmente em sistema de criação extensivo com reduzida adoção de tecnologias, que acarreta baixos índices zootécnicos dos rebanhos. Observa-se uma diminuição na taxa de crescimento dos animais, abate tardio, baixo rendimento de carcaça que não satisfaz às exigências do mercado em termos de qualidade, além de idade avançada ao primeiro parto, longos intervalos entre partos, baixa produção leiteira na vida útil das matrizes e altas taxas de mortalidade nos rebanhos (FREITAS et al., 2005; MACIEL, 2006).

No entanto, uma fração de criadores já adota uma marcada melhoria na qualidade zootécnica dos seus rebanhos de caprinos e ovinos baseada em técnicas de seleção, biotécnicas de reprodução, importação de embriões e inseminação artificial com sêmen fresco e congelado. O Nordeste tem se transformado em exportador de animais de alta genética, principalmente das raças Santa Inês, Dorper e Boer para outras regiões. Contudo, um fator limitante importante para a expansão da atividade é a ocorrência de doenças endêmicas que diminuem a produtividade do rebanho e comprometem o comércio livre de produtos de origem caprina e ovina (MACIEL, 2006).

As doenças mais prevalentes nos ovinos e caprinos e que devem ser prevenidas e controladas foram descritas no Estado de Pernambuco por Alencar et al. (2010). São elas a raiva, febre aftosa, clostridioses, linfadenite caseosa, endoparasitoses, ectoparasitoses, abortos provocados por *Chlamydophila sp.* e *Toxoplasma gondii*, ceratoconjuntivite infecciosa, mastites, ectima contagioso, pododermatite necrótica, onfalite e broncopneumonia. De acordo com Maciel (2006) e Alencar et al. (2009) as doenças mais importantes de forma geral para a ovinocaprinocultura são as micoplasmoses, artrite encefalite caprina, deficiências nutricionais, intoxicações por agentes químicos ou plantas. Estudos sobre os aspectos sanitários dos rebanhos caprinos e ovinos foram realizados nos Estados do Ceará (PINHEIRO et al., 2000), Paraíba (BANDEIRA, 2005; MEDEIROS et al., 2005; NÓBREGA JÚNIOR et al., 2005),

Minas Gerais (GOUVEIA, 2003), Rio Grande do Norte (PEDROSA et al., 2003) e São Paulo (RODRIGUES et al., 2005).

A tuberculose não foi relatada como uma doença importante para ovinos e caprinos, mas existem registros em caprinos no Estado de Pernambuco (MELO et al., 2005; SILVA et al., 2010; MELO et al., 2012) e Paraíba (PIGNATA et al., 2010; HIGINO, 2010), além da paratuberculose em caprinos e ovinos que foi diagnosticada no Semiárido da Paraíba por Oliveira et al. (2010).

A linfadenite caseosa é uma doença importante de ovinos e caprinos, tem caráter endêmico no Nordeste brasileiro, e foi registrada nos Estados da Bahia (MOURA COSTA et al., 1973), Pernambuco e Paraíba (ABREU et al., 2008; ANDRADE et al., 2012).

O caráter zoonótico e as perdas econômicas provocadas pelas doenças granulomatosas e o fato de não haver pesquisas direcionadas para a sua investigação na região Nordeste do Brasil, justifica a realização de estudos desta natureza. O conhecimento do “status” sanitário dos animais criados no estado de Alagoas por meio do diagnóstico dessas enfermidades consiste em uma ferramenta necessária para elaboração de estratégias de controle e monitoramento dos rebanhos.

OBJETIVO GERAL

Estudar a ocorrência de doenças granulomatosas (tuberculose, paratuberculose e linfadenite caseosa) em ovinos e caprinos abatidos no Estado de Alagoas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar e descrever as lesões anátomo-histopatológicas encontradas nos tecidos de ovinos e caprinos abatidos em um matadouro municipal no Estado de Alagoas;
- Diferenciar por meio da técnica histológica, as lesões causadas por *Mycobacterium* spp. das provocadas por *Corynebacterium pseudotuberculosis* e por outros agentes que determinam lesões granulomatosas;
- Identificar o *Mycobacterium* spp. em lesões caseosas pela técnica de Imunohistoquímica;
- Isolar *Corynebacterium pseudotuberculosis* de lesões caseosas de caprinos e ovinos;
- Identificar caprinos e ovinos positivos para tuberculose por meio do teste tuberculínico;
- Analisar o perfil epidemiológico das propriedades estudadas.

REVISÃO DE LITERATURA

1. TUBERCULOSE

1.1 Etiologia e Epidemiologia

A tuberculose é uma doença infectocontagiosa de evolução crônica causada pelo *Mycobacterium* spp. e caracterizada pela formação de granulomas também denominados tubérculos nos tecidos dos animais (ACHA; SZYFRES, 2001). A bactéria causadora da tuberculose pertence à ordem Actinomycetales, família *Mycobacteriaceae* e gênero *Mycobacterium* (MILTGEN et al., 2002). No homem, a espécie normalmente associada à doença é o *Mycobacterium tuberculosis*, enquanto que nos bovinos, ovinos e caprinos, *M. bovis* é o mais prevalente (BIBERSTEIN; ZEE, 1994; HIRSH; ZEE, 1999).

Em caprinos, *Mycobacterium avium* e o *Mycobacterium tuberculosis* já foram isolados ocasionalmente (MORRIS et al., 1994; REBHUN, 2000) e também *M. caprae* (ARANAZ et al., 2003; CVETNIC et al., 2007) e *M. pinnipedii* (COUSINS et al., 2003).

Mycobacterium spp. são bastonetes imóveis, aeróbios, de crescimento lento, não formadores de esporos, cápsula ou flagelos, e por serem álcool-ácido-resistentes (A.A.R) resistem ao efeito descolorante do álcool ácido bem como ácidos minerais fortes (DUCATI et al., 2004). Geralmente são gram positivos fracos e coram-se em vermelho pelo corante de Ziehl-Neelsen (TIMONEY et al., 1988).

As micobactérias apresentam em sua parede celular grande quantidade de material gorduroso, um glicolípido (trealose-6,6 dimicolato), denominado fator corda. Este é responsável pela sua propriedade álcool-ácido resistente, por inibir a quimiotaxia; é leucotóxico e protege a bactéria da fagocitose, impedindo a formação do fagolisossomo. Outro fator importante na patogenicidade são as tuberculoproteínas que induzem hipersensibilidade tipo IV, que contribuem para a morte celular (RIET-CORREA; GARCIA, 2007).

As espécies de *Mycobacterium* podem ser confundidas com outras bactérias de gêneros relacionados como *Corynebacterium*, *Nocardia* e *Rhodococcus* (BIBERSTEIN; ZEE, 1994; HIRSH; ZEE, 1999).

A transmissão do *Mycobacterium* spp. ocorre principalmente por via aerógena, embora seja possível a transmissão pelo leite, congênita e sexual (JONES; HUNT; KING, 2001; RIET-CORREA; GARCIA, 2007). Para caprinos, a principal fonte de infecção são os bovinos, as aves e o homem (ACHA; SZYFRES, 2001). A doença pode ainda ser disseminada por gotículas de aerossol, saliva e fezes após ingestão de material caseoso. A transmissão natural do *M. bovis* pode acontecer entre animais domésticos e selvagens da mesma ou de diferentes espécies, de animais para humanos e de humanos para animais ou entre humanos (SOUZA et al., 2002).

A tuberculose tem ampla distribuição geográfica e sua prevalência é marcante em países subdesenvolvidos ou em economias emergentes (BRASIL, 2006) e, baixa nos países desenvolvidos onde a doença foi erradicada ou está em fase de erradicação devido à implantação de programas de controle bem estruturados, inspeção de carnes e pasteurização do leite (GRANGE; COLLINS, 1987; MOTA; NAKAJIMA, 1992; BRASIL, 2006).

No Brasil estima-se que ocorram 80.000 casos novos de tuberculose em humanos, dos quais aproximadamente 4.000 (5%) são causados por *M. bovis*. De acordo com Melo et al. (2005) uma proporção desconhecida de casos de tuberculose (2 a 8%) ocorre devido à infecção por *Mycobacterium bovis* e sua gênese está intimamente relacionada à tuberculose bovina. É possível, portanto que a tuberculose caprina também desempenhe papel relevante na infecção de humanos.

O Programa Nacional de Controle da Tuberculose do Ministério da Saúde estima que a tuberculose esteja presente em 1/3 da população mundial e a cada ano surgem aproximadamente oito milhões de novos casos da doença (BRASIL, 2006). A epidemia da síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) contribuiu para o aumento significativo no número de casos de tuberculose humana nos grandes centros urbanos (SAUBOLLE, 1989; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993). De acordo com O'Reilly e Daborn (1995), a AIDS aumentou o risco de manifestação da doença em humanos, tanto por *M. tuberculosis* como possivelmente por *M. bovis*. Além disso, surgiram cepas multidroga-resistentes devido a tratamentos inadequados ou incompletos (DABORN; GRANGE, 1993).

Em relação à pecuária, a importância econômica atribuída à doença está baseada nas perdas diretas resultantes da morte de animais, queda no ganho de peso, diminuição na produção de leite e descarte precoce de animais com alto valor zootécnico (BRASIL, 2006).

Nos pequenos ruminantes, por muito tempo a tuberculose foi considerada uma doença rara (SOLIMAN et al., 1953; LUKE, 1958; THOEN, 1988; RADOSTITS et al., 2002) o que levou ao conceito de que estas espécies animais fossem naturalmente resistentes à infecção

por *Mycobacterium* spp. (THOEN, 1988; RADOSTITS et al., 2002). De acordo com Cousins et al. (1993) e Radostits et al. (2002), a tuberculose em pequenos ruminantes ocorre comumente em rebanhos que pastejam junto a bovinos infectados.

Para prevenir a artrite encefalite caprina (CAE), os criadores de caprinos fornecem leite de vacas para cabritos e isto pode ser um fator de risco para a tuberculose em caprinos (MELO et al., 2005), pois a CAE é transmitida primariamente através do leite e colostro em cabritos em fase de amamentação (EAST, 1993).

Há registros da tuberculose em caprinos nos Estados Unidos (ANDERSON; KING, 1993), México (REYNOSO et al., 1999), Inglaterra (SOLIMAN et al., 1953), Espanha (GUTIÉRREZ et al., 1998), Austrália (COUSINS et al., 1993), Índia (KAKKAR et al., 1977; SHARAN et al., 1988) e África (MILNE, 1955).

No Brasil, há relatos da ocorrência no estado de São Paulo, onde *M. bovis* foi isolado de um caprino atendido no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (BENESI et al., 2008). Em Minas Gerais, Pinheiro et al. (2007) relataram um surto de tuberculose em caprinos leiteiros após abate de animais reagentes à prova da tuberculina e observaram lesões macroscópicas, histopatológicas e isolaram *M. bovis*.

Em um trabalho realizado por Silva et al. (2006) foram utilizados trinta caprinos sadios, não reagentes ao teste de tuberculinização intradérmico cervical comparativo. Dos 30 animais utilizados, dez foram sensibilizados com *Mycobacterium avium* e dez com *Mycobacterium bovis*. Os autores concluíram que para o teste cervical comparativo, a reação à tuberculina bovina foi considerada negativa quando o aumento da espessura de pele foi menor ou igual ao da aviária ou quando ultrapassou o da aviária em até 1,8 mm; inconclusiva quando foi maior que a aviária e a com uma diferença situada entre 1,9 e 2,4mm. A reação neste teste foi considerada positiva quando foi igual ou superior a 2,5mm.

Thorel (1980), Liébana et al. (1998) e Seva et al. (2002) recomendaram a inclusão dos pequenos ruminantes nos programas de erradicação da tuberculose. Silva (2004) cita ainda que deve ser utilizada a tuberculinização intradérmica em pequenos ruminantes como parte das exigências legais para a garantia da qualidade sanitária do leite.

Em Pernambuco, cabras reagiram positivamente ao teste de tuberculina e abscessos orais foram observados em animais portadores de reações imunoalérgicas positivas ao *M. bovis* (SALDANHA et al., 2005). Também no estado de Pernambuco Melo et al. (2012) tuberculinizaram 442 cabras leiteiras com distúrbios respiratórios e 15 animais (3,4%) foram positivos. Em Patos, Paraíba, *Mycobacterium tuberculosis* foi isolado em um caprino abatido

no matadouro público municipal (HIGINO, 2010). Silva et al. (2010) no semiárido da Paraíba tuberculinizaram caprinos e observaram percentual de positividade de 5,2%. Neste trabalho foi realizada necropsia em alguns animais positivos onde foram observadas lesões sugestivas de tuberculose que foram positivas na técnica PRA (PCR-Restriction Enzyme Analysis) para o Complexo *M. tuberculosis*. Também na Paraíba, Pignata et al. (2010) relataram a ocorrência de tuberculose em caprinos no teste tuberculínico. De 1866 animais testados, nove (0,48%) foram positivos. Fragmentos de órgãos de tecidos com granulomas de duas cabras positivas foram coletados onde se observou o crescimento de *M. bovis*.

Em ovinos, há relatos da ocorrência da enfermidade em países como EUA, Inglaterra, Nova Zelândia, África, Irlanda, Alemanha e Brasil (BENESI et al., 2006). No Brasil, Cyrillo et al. (2007) realizaram trabalho experimental com o objetivo de estabelecer valores de referência para a interpretação da reação tuberculínica em ovinos. Foram utilizados 30 animais, inoculados com cepas padrões de *M. bovis* AN5 e *M. avium* D4. Os resultados da leitura do teste realizada às 72h permitiu concluir que os animais foram considerados positivos quando a reação ao PPD bovina superou a aviária em pelo menos 2mm; inconclusiva, quando a reação ao PPD bovina foi maior que a aviária com diferença entre 1 e 1,90mm e negativa quando a reação bovina foi menor que a aviária ou maior em até 0,90mm. Estes valores obtidos foram os propostos como padrão de interpretação do teste para diagnóstico da tuberculose ovina.

No Brasil, Marcondes et al. (2007) inocularam tuberculina bovina e aviária em 57 ovinos. Onze animais (19,3%) apresentaram à necropsia, lesões sugestivas de tuberculose e foram isoladas micobactérias em sete destes animais. Higino (2010) em trabalho realizado no matadouro municipal de Patos, Paraíba verificou que de 28 ovinos com lesões granulomatosas, dois (7,14%) foram positivos no isolamento bacteriano para micobactérias ambientais. De um total de 8058 cabras abatidas ao longo de um período de sete meses no matadouro público da cidade de Patos, Paraíba, 822 animais foram inspecionados e 12 (1,46%) apresentaram lesões sugestivas de tuberculose na glândula mamária, pulmões, fígado, mediastino, mesentério, linfonodos submandibular, parotídeo e pré-escapulares. Em um animal observou-se, ao exame histopatológico, a presença de lesões granulomatosas nos linfonodos submandibulares confirmado através do crescimento de colônias pertencentes ao complexo *M. tuberculosis*. Com a análise na técnica de PCR detectou-se *M. bovis*.

1.2 Patogenia

A lesão no ponto de entrada é comum quando a infecção ocorre por inalação da bactéria. Segundo Hirsh e Zee (1999), a via respiratória é considerada a mais importante porta de entrada da infecção para os caprinos e ovinos e as lesões manifestam-se principalmente nos pulmões. Quando os animais são infectados pela via digestiva a lesão localiza-se preferencialmente nos linfonodos mesentéricos (RIET-CORREA; GARCIA, 2007).

Após a inalação, o agente penetra no pulmão onde é fagocitado por macrófagos alveolares, sendo o seu destino determinado pelos seguintes fatores: virulência do micro-organismo, carga infectante e resistência do hospedeiro (RADOSTITS et al., 2000; BRASIL, 2006). No organismo, *Mycobacterium* spp. pode se disseminar no início da infecção, através da evolução do complexo primário. A disseminação pós-primária é oriunda de uma reinfeção ou da diminuição da imunidade adquirida (BERNABÉ et al., 1991; RADOSTITS et al., 2002).

Um foco primário visível desenvolve-se num prazo de oito dias após a entrada da bactéria. 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, característico do granuloma que é quase patognomônico da tuberculose. As bactérias difundem-se desse foco primário ao linfonodo regional, causando o desenvolvimento de lesões similares (RADOSTITS et al., 2002).

A disseminação da bactéria para outros órgãos pode ocorrer precocemente durante o desenvolvimento da doença, ou numa fase tardia, provavelmente em função de uma queda na imunidade do animal. A generalização pode assumir as formas miliar ou protraída. A miliar ocorre de forma abrupta e maciça, com entrada de um grande número de bacilos na circulação; a forma protraída se dá por via linfática ou sanguínea, acomete o pulmão, linfonodos, fígado, baço, úbere, ossos, rins, sistema nervoso central e dissemina-se para praticamente todos os tecidos (BRASIL, 2006).

1.3 Características Clínicas e Patológicas

Os sinais clínicos apresentados pelos pequenos ruminantes são semelhantes aos observados nos bovinos e caracterizam-se por emagrecimento progressivo, tosse crônica e aumento dos linfonodos superficiais (BENESI et al., 2008), além de anemia e secreção nasal secundária à doença respiratória (MELO et al., 2012).

As alterações macroscópicas caracterizam-se pela formação de nódulos ou granulomas firmes, brancos, cinza ou amarelo. Ao corte possuem centro necrosado e caseoso, de coloração amarelada, aspecto seco e sólido. A calcificação é comum e, ao corte, uma sensação arenosa e rangente indica a presença de material calcário (JONES; HUNT; KING, 2000).

BENESI et al. (2008) relataram um caso de tuberculose em um caprino com lesões pulmonares caracterizadas pela formação nódulos caseosos. Em Pernambuco Melo et al. (2012) realizaram necropsia em cinco de sete caprinos com resultados positivos no teste tuberculínico. Foram observadas principalmente lesões pulmonares caracterizadas pela formação de nódulos salientes e difusos, de tamanho variado e coloração amarelada que ao corte possuía aspecto friável com áreas arenosas ou calcificadas. Nódulos hepáticos amarelados e caseosos também foram observados em dois dos cinco caprinos.

No exame histopatológico são observadas áreas de necrose com calcificação distrófica no centro dos granulomas, circundadas por um agregado concêntrico de macrófagos diferenciados em células epitelióides que se fundem frequentemente para formar as células gigantes de Langhans ou multinucleadas. Além disso, observa-se uma cápsula de tecido conjuntivo circundando todo o granuloma (MELO et al., 2012).

1.4 Diagnóstico e Controle

O diagnóstico da tuberculose pode ser realizado pelo exame físico e observação dos sinais clínicos nos casos avançados da doença (RIET-CORREA; GARCIA, 2007; MELO et al., 2012), através das lesões macroscópicas na necropsia e matadouro (CORDES et al., 1981; DAVIDSON et al., 1981), além da análise histopatológica dos granulomas (CORDES et al., 1981; DAVIDSON et al., 1981; BENESI et al., 2008; MELO et al., 2012) com a realização de técnicas especiais de coloração como Ziehl-Nielsen (DIRKSEN et al., 1993; BENESI et al., 2008; MELO et al., 2012). Outra técnica para detecção das micobactérias é a imunohistoquímica que, segundo Brees et al. (2000) é um método bastante sensível e específico, importante na detecção de animais infectados.

Em bovinos utiliza-se para diagnóstico o teste alérgico-cutâneo com tuberculina que é o método recomendado oficialmente para programas de controle e erradicação da tuberculose em todo o mundo. Este teste pode revelar infecções incipientes a partir de 3 a 8 semanas da exposição ao *Mycobacterium*, apresenta boa especificidade e sensibilidade e é considerado pela OIE como técnica de referência (BRASIL, 2006).

A tuberculina é um extrato obtido de filtrados de cultivos de *Mycobacterium* spp. previamente esterilizados pelo calor. A reação é mediada por células e quando a tuberculina é injetada na pele de um animal não infectado não há resposta significativa. Mas a inoculação em um animal infectado por micobactérias, portanto sensibilizado para a tuberculina, causará uma resposta de hipersensibilidade retardada com endurecimento e edema progressivo no local da inoculação, que atinge seu máximo às 72 horas. Após este tempo, a reação tende a diminuir lentamente (BRASIL, 2006).

Em pequenos ruminantes alguns trabalhos foram desenvolvidos no Brasil com o objetivo de padronizar o uso da tuberculina. Em caprinos, o alérgoteste foi realizado sob condições experimentais por Silva (2006) e a campo de forma preliminar (MELO et al., 2008). Para ovinos o teste foi padronizado por Cyrillo (2007).

Pignata et al. (2009) examinaram 1.866 caprinos procedentes de 84 propriedades localizadas na microrregião de Monteiro, Paraíba, utilizando o alérgoteste padronizado para caprinos e encontraram 9/1866 (0,48%) animais positivos. Já Melo et al. (2012) aplicaram o teste em 442 cabras e destas 15 foram positivas (3,4%).

A intensidade da reação cutânea pode ser quantificada pela mensuração do tamanho do edema ou espessamento da pele. A reação à tuberculina pode evoluir para uma necrose central, algumas vezes acompanhada por vesícula (BRASIL, 2006). Em pequenos ruminantes, o teste consiste na utilização de suspensões de *M. avium* (estirpe D4) e *M. bovis* (estirpe AN5) como antígenos atenuados (SILVA et al., 2006; CYRILLO et al., 2007).

Outros exames laboratoriais incluem análise bacteriológica, provas de estimulação de linfócitos, prova de interferon gama em cultivos de sangue total e diferentes métodos de amplificação genética e a reação de polimerase em cadeia (PCR) (RIET CORREA e GARCIA, 2007)

Existem algumas desvantagens na utilização do exame bacteriológico, especialmente pelo lento crescimento bacteriano, tendo em vista a reduzida quantidade de bacilos na amostra, a necessidade da utilização de meios de cultura seletivos, o manuseio inadequado e a possível contaminação da amostra (ROXO, 1996), o que estimula a utilização de outros métodos diagnósticos associados (MEDEIROS et al., 2010).

Marcondes et al. (2007) inocularam tuberculina bovina e aviária em 57 ovinos e na PCR identificou-se um animal infectado por micobactéria pertencente ao complexo *M. tuberculosis*. Do mesmo modo, Silva et al. (2010) no semiárido da Paraíba realizaram tuberculinização em caprinos e alguns animais foram positivos na técnica de PCR para o mesmo agente supracitado.

Higino et al. (2011) realizaram um trabalho em matadouro no município de Patos, Paraíba e verificaram que de 822 animais inspecionados com lesões sugestivas de tuberculose, um (1) foi positivo para *M. bovis* na PCR. No trabalho realizado por Melo et al. (2012), amostras de DNA submetidas à PCR convencional foram extraídas do sangue de uma cabra e demonstrou resultado positivo para o gene RV2807 (Complexo *M. tuberculosis*) e posteriormente foram extraídas amostras de DNA de linfonodo mesentérico e fígado de um caprino e fragmento de pulmão de dois outros, que ao serem amplificados pela Nested PCR em tempo real apresentaram resultado positivo para os genes RV2807 (Complexo *M. tuberculosis*) e MMSP6 (*M. bovis*).

O “fingerprinting” (RFLP) de isolados de *M. bovis* tornou-se também um importante instrumento epidemiológico para estabelecer conexões entre rebanhos ou zonas infectadas (RIET-CORREA; GARCIA, 2007).

Apesar da grande importância epidemiológica e risco à saúde pública, o Programa Nacional de Sanidade de Caprinos e Ovinos (PNSCO) instituído pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) através da Secretaria de Defesa e Agropecuária (DAS) não contempla medidas específicas para o diagnóstico e controle da tuberculose em pequenos ruminantes.

Os dados clínico-epidemiológicos da tuberculose caprina e ovina e suas implicações para a Saúde Pública ainda são desconhecidos e admite-se que não existam dados que justifiquem a implantação de medidas específicas visando o controle sistemático da doença nessas espécies (MAPA, 2006). Contudo, sabe-se da sua transmissibilidade para humanos (FERNANDES, 2002) e reconhece-se a coexistência da tuberculose em pequenos ruminantes com humanos (RUFINO-NETO, 2001) e bovinos (MELO et al., 1999; MAPA, 2006; SILVA et al., 2006).

2. PARATUBERCULOSE

2.1 Etiologia e Epidemiologia

A paratuberculose ou doença de Johne é uma enterite granulomatosa crônica e contagiosa causada pelo *Mycobacterim avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), responsável por perdas econômicas que ocorrem pela redução na produtividade, maior suscetibilidade a outras doenças, aumento dos custos sanitários e maior taxa de descarte precoce dos animais (CHIODINI et al., 1984; KREEGER, 1991).

A doença acomete principalmente os bovinos, mas também já foi diagnosticada em búfalos (MOTA et al., 2010; DALTO, 2011), ovinos, caprinos (OLIVEIRA et al., 2010), ruminantes selvagens, equinos, suínos, lebres, raposas e roedores. Tanto os bovinos como outras espécies podem ser portadores assintomáticos. Existem fortes indícios de que o agente esteja envolvido na etiologia de uma ileocolite granulomatosa em humanos conhecida como doença de Crohn (CHAMBERLIN et al., 2001).

Os animais com infecção subclínica são os principais responsáveis pela introdução da doença em rebanhos livres (RIET-CORREA; DRIEMEIER, 2007). Fatores estressantes como parto e má nutrição podem desencadear os sinais clínicos da doença (WHITLOCK; BUERGELT, 1996).

A transmissão ocorre pela via fecal-oral e a bactéria apresenta elevada resistência no ambiente (ACYPRESTE et al., 2005). Devido ao período de incubação geralmente longo, os animais infectados podem excretar o microrganismo nas fezes por 15 a 18 meses, antes de surgirem os primeiros sinais clínicos da doença.

A paratuberculose foi descrita pela primeira vez por Johne e Fronthingham em 1895 na Alemanha como forma atípica da tuberculose em uma vaca (MOTA et al., 2007). Em 1910, o agente foi isolado, pela primeira vez, por Twort e publicado por Twort e Ingram (1912). Posteriormente, a doença foi reconhecida em diversos países com a denominação de Doença de Johne (HUCHZERMEYER et al., 1994).

A doença ocorre mundialmente e assume grande importância clínico-epidemiológica em alguns países como na Nova Zelândia, Austrália e Reino Unido e nos países do Mediterrâneo em ovinos e bovinos. Sua ocorrência foi registrada na África do Sul, principalmente em animais importados (HUCHZERMEYER et al., 1994). Nos EUA, os prejuízos econômicos relacionados à enfermidade eram, na década de 80, estimados em mais de 1 bilhão e meio de dólares (JONES, 1989).

No Brasil, o primeiro relato da paratuberculose foi divulgado no Jornal do Comércio do Rio de Janeiro, em bovinos da raça Flamengo importados da Bélgica, no Posto Zootécnico Federal, em Pinheiro, RJ (DUPONT, 1915). Posteriormente, Santos e Silva (1956), Dacorso Filho et al. (1960) e Silva e Pizelli (1961) também diagnosticaram a doença neste mesmo Estado. Em Minas Gerais, Nakajima et al. (1991) relataram a enfermidade em uma vaca da raça Holandesa com cinco anos de idade e importada da América do Norte. Em Santa Catarina, Portugal et al. (1979) diagnosticaram dois casos de paratuberculose bovina. Ramos et al. (1986), no Rio Grande do Sul registraram a forma clínica da enfermidade em um touro da raça Holandesa, doador de sêmen em uma central de inseminação artificial. Driemeier et al. (1999), também no Rio Grande do Sul, descreveram as lesões clínico-patológicas em oito vacas em um rebanho importado da Argentina.

Na Região Nordeste, a doença foi relatada em bovinos no estado da Paraíba (DIAS et al., 2002) e no Estado de Pernambuco o MAP foi isolado das fezes de quatro animais oriundos de um rebanho bovino leiteiro por MOTA et al. (2007) e em búfalos por MOTA et al. (2010).

Mainar-Jaime e Vázquez-Boland (1998) relataram que as raças exóticas de caprinos e ovinos constituem um dos principais fatores de risco para a ocorrência da paratuberculose. No Brasil, quando a doença é relatada, a importação de bovinos é o principal aspecto epidemiológico envolvido (DRIEMEIER et al., 1999).

A doença foi diagnosticada em ovinos na Austrália onde a fonte de infecção não foi determinada e na Islândia, onde foi introduzida por uma pequena remessa de carneiros reprodutores provenientes da Alemanha (RADOSTITS, 2002). A infecção foi reproduzida experimentalmente em ovinos por Silva (1968) e em caprinos por Poester e Ramos (1994), que demonstraram a suscetibilidade desta espécie ao MAP. No ano de 2010, a doença foi diagnosticada no Estado da Paraíba em dois rebanhos de caprinos e ovinos em criação consorciada (OLIVEIRA et al., 2010).

Em 2012 foi determinada a presença de anticorpos para o agente em amostras de soro de 734 caprinos e 392 ovinos, sem sinais clínicos aparentes, provenientes de 14 Municípios do semiárido Paraibano. Neste trabalho, dos 14 municípios estudados houve presença de animais sorologicamente positivos, variando de 20% a 70%. Em caprinos sem raça definida e mestiços, a frequência (48,56%) foi significativamente inferior que a de caprinos de raças puras (57,24%). Em ovinos, com escore de 1 a 3 a frequência (59,39%) foi significativamente maior que a de ovinos com escore superior a 3 (42,42%). No exame microbiológico foram

observadas colônias semelhantes às do MAP em 9 (6,58%) das 180 amostras de fezes analisadas, sendo uma de caprinos e 8 de ovinos (MEDEIROS et al., 2012)

2.2 Patogenia

Após a ingestão, o MAP se instala primariamente nas tonsilas e gânglios linfáticos retrofaríngeos e a partir do quarto dia se dissemina para outros tecidos, principalmente para o intestino delgado, gânglios mesentéricos e válvula íleo-cecal onde são fagocitados pelas células M. Esta localização pode ser também considerada um complexo primário da doença. O MAP é capturado por estas células e os macrófagos subepiteliais transportam as micobactérias para o interior das placas de Peyer (GARCIA MARTIN, 1990).

Após a fagocitose, a bactéria é liberada das células M e seus antígenos apresentados ao tecido linfóide associado ao intestino (“GALT”), sensibilizando o sistema imune intestinal para a presença desta micobactéria (RIET- CORREA; DRIEMEIER, 2007). A partir desse momento, as lesões granulomatosas desenvolvem-se na zona T das placas de Peyer para posteriormente se disseminar para outros tecidos, fundamentalmente os folículos linfóides (GARCIA MARTIN, 1990). A localização das placas de Peyer, especialmente no íleo, pode explicar o porquê das lesões intestinais se iniciarem nesta região (MOMOTANI et al., 1988). Os macrófagos infectados podem também migrar para os linfáticos intestinais e se disseminar para os linfonodos mesentéricos. A presença de acentuada lesão granulomatosa pode causar diarreia por má absorção. A diminuição da absorção de proteínas, associada à perda dessas proteínas pela parede intestinal lesada causa hipoproteinemia, emagrecimento e edema (CLARKE, 1997).

O longo tempo de incubação da enfermidade permite a excreção dos micro-organismos nas fezes, por até 18 meses, antes do início dos sinais clínicos. No entanto, a maior quantidade de MAP é eliminada quando o animal apresenta a diarreia (CHIODINI; VAN KRUIJNINGEN; MERKAL, 1984).

2.3 Características Clínicas e Patológicas

Clinicamente os ovinos e caprinos geralmente permanecem assintomáticos até os dois a sete anos de idade, onde a perda de peso crônica é mais evidenciada e 20% dos animais enfermos apresentam diarreia crônica (PUCH, 2004). Ocasionalmente, os animais jovens também podem ser acometidos (KUMAR et al., 2007).

De acordo com Radostits et al. (2002), ovinos e caprinos apresentam principalmente diarreia crônica e emaciação progressiva, contudo em ambas as espécies, a diarreia não é grave ou pode estar ausente. Os ovinos podem apresentar-se anoréxicos e ocorrer perda de lã. Nos caprinos, a depressão e a dispnéia são evidentes, sendo mais discretas nos ovinos. Oliveira et al. (2010) relataram casos naturais de paratuberculose em ovinos e caprinos na Paraíba onde todos os animais apresentaram aumento de volume dos linfonodos mesentéricos, edema e ao corte, nódulos esbranquiçados salientes no córtex.

À necropsia de ovinos e caprinos geralmente se observa especialmente no íleo terminal, alterações de espessamento e enrugamento da mucosa que são característicos da paratuberculose, além de placas avermelhadas. Os linfonodos mesentéricos podem estar aumentados e edematosos. Nos ovinos ocorrem duas formas da doença: a tuberculóide (lesão paucibacilar) com uma forte resposta imunológica celular, presença de poucos *Mycobacterium* nas lesões, numerosos linfócitos e presença de células gigantes; e a lepromatosa (lesão multibacilar) com forte resposta imunológica humoral com numerosos *Mycobacterium* e macrófagos. As duas formas associadas, chamadas de formas limítrofes (*borderline forms*) tendem a apresentar os sinais clínicos mais graves (CLARKE; LITTLE 1996). Em caprinos, as lesões podem ser classificadas como focais ou difusas do tipo multibacilar, linfocítica ou mista (OLIVEIRA et al., 2010).

De acordo com Oliveira et al. (2010), as lesões macroscópicas em ovinos caracterizam-se por mucosa do jejuno e íleo espessada, irregular e enrugada. Áreas multifocais com ulcerações da mucosa e nódulos esbranquiçados na serosa também são observadas tanto no intestino grosso quanto no delgado. Alguns animais assintomáticos apresentam a mucosa do íleo e jejuno discretamente enrugada e nos caprinos a mucosa do duodeno apresenta-se levemente avermelhada com os vasos linfáticos do mesentério dilatados.

Na microscopia, Oliveira et al. (2010) descreveram nos casos naturais de infecção observados na Paraíba, que tanto os ovinos como os caprinos apresentaram a lâmina própria e submucosa distorcida e distendida por infiltrado inflamatório difuso e acentuado, constituído predominantemente por macrófagos espumosos e poucos linfócitos e plasmócitos. No fígado de um dos caprinos havia microgranulomas multifocais distribuídos aleatoriamente, constituídos por macrófagos espumosos e linfócitos e no rim havia cilindros hialinos e gotas hialinas no interior de túbulos contornados. Também observou-se inflamação linfocitária no miocárdio. Clarke e Little (1996) descreveram também na microscopia uma enterite e linfadenite granulomatosa.

2.4 Diagnóstico e Controle

Quanto ao diagnóstico da paratuberculose, os testes imunológicos auxiliam na identificação de portadores assintomáticos, porém não são definitivos no que se refere à prevalência da doença (STEHMAN, 1990). A observação dos sinais clínicos da doença, dados epidemiológicos, achados de necropsia, exame histopatológico e isolamento do agente concluem o diagnóstico (OIE, 2009). É importante considerar o diagnóstico diferencial, pois a diarreia crônica apresentada pelos animais é também verificada em outras doenças como salmonelose, deficiência de cobre e parasitoses gastrointestinais (RIET-CORREA; DRIEMEIER, 2007).

As lesões histológicas características são facilmente evidenciadas mediante técnicas rotineiras como a coloração por hematoxilina-eosina que pode ser complementada com a técnica de Ziehl-Nielsen para a pesquisa de bactérias álcool-ácido-resistentes associadas às lesões, sendo uma característica que permite concluir o diagnóstico. O exame histopatológico dos intestinos, quando se inclui a válvula íleo-cecal é considerado de elevado valor diagnóstico (CLARKE, 1997).

A técnica de imunohistoquímica aplicada ao diagnóstico da paratuberculose apresenta maior sensibilidade que a técnica de coloração de Ziehl-Neelsen, podendo ser aplicada em amostras frescas ou fixadas embora tenha como principais desvantagens ser mais demorada e dispendiosa que a coloração de rotina (COETSIER et al., 1998).

O isolamento de MAP requer meios seletivos de cultura com a adição de antimicrobianos e fatores de crescimento específicos. É considerado o método mais conclusivo de identificação e diagnóstico da doença. O processamento laboratorial é trabalhoso e o tempo de crescimento do micro-organismo é demorado, levando cerca de 8 a 16 semanas a 37° C (WHIPPLE et al., 1991). Outras técnicas de diagnóstico incluem fixação de complemento (COLGROVE et al., 1989); imunodifusão em gel de ágar (SHERMAN et al., 1984); ensaio imunoenzimático e o teste do interferon gama (STABEL, 1997).

3. LINFADENITE CASEOSA

3.1 Etiologia e Epidemiologia

A linfadenite caseosa conhecida por mal do caroço, pseudotuberculose, enfermidade de Preisz-Nocard e Cheesy Gland (VESCHI, 2005), é uma doença infecto-contagiosa crônica que acomete os caprinos e ovinos causada por uma bactéria denominada *Corynebacterium pseudotuberculosis* (SOUZA et al., 2011).

Além da linfadenite caseosa dos caprinos e ovinos este microrganismo causa também a linfangite ulcerativa em equinos (DORELLA et al., 2006) e abscessos superficiais em bovinos, suínos, cervos e animais de laboratório (COLLET; BATH; CAMERON; 1994; SMITH; SHERMAN, 1994). Além disso, trata-se de uma zoonose e nas últimas décadas tem aumentado os registros de infecção em indivíduos imunossuprimidos (SMITH, 2003) com a doença, e de acordo com Peel et al. (1997) e Mills et al. (1997), a infecção em humanos manifesta-se com o mesmo quadro clínico observado nos ovinos e caprinos.

Corynebacterium pseudotuberculosis é um bacilo Gram-positivo, não esporulado, aeróbio facultativo e parasita intracelular de macrófagos. É curto e irregular (0,5 a 0,6 µm por 1 a 3 µm), podendo apresentar aspecto cocóide, e pode se apresentar isolado ou formando agrupamentos irregulares ou em paliçada (BATEY, 1986a).

A doença ocorre em países onde existem grandes criações de ovinos e caprinos como Austrália, Argentina, Nova Zelândia, África do Sul e Estados Unidos (BURREL, 1981) e em países da Comunidade Europeia (STING; STENG; SPENGLER, 1998).

No Brasil, a linfadenite caseosa é considerada de grande importância para caprinos e ovinos da região Nordeste, onde a prevalência de animais com sinais clínicos pode chegar a 50%. O agente já foi isolado e caracterizado no interior da Bahia (MOURA COSTA et al., 1973), Pernambuco (ABREU et al., 2008a) e Paraíba (ANDRADE et al., 2012).

No semiárido da Paraíba a ocorrência da infecção por *C. pseudotuberculosis* foi estudada em 320 caprinos e 320 ovinos. Destes, 7,7% (49/640) apresentaram evidências clínicas de linfadenite caseosa e no exame microbiológico isolou-se o agente em 14 caprinos e oito ovinos (ANDRADE et al., 2012).

Souza et al. (2011) realizaram um trabalho em ovinos deslanados em um matadouro no município de Mulungu, Paraíba. Dos 1466 ovinos abatidos, 236 (15,9%) apresentaram lesões macroscópicas semelhantes à linfadenite caseosa. Estas lesões estavam localizadas nos linfonodos pré-escapulares em 36,3% (97/268), nos parotídeos em 22,4% (60/268) e nos pré-

crural em 20,9% (56/268). Foram encontradas lesões em todos os lotes provenientes de diversos municípios da Paraíba, Pernambuco e Bahia. No exame histológico, em 11 linfonodos havia lesões da linfadenite caseosa e das 51 amostras encaminhadas para o cultivo bacteriológico, 74,5% (43/51) foi isolado *C. pseudotuberculosis*.

Sá (2012) em estudo realizado em animais abatidos nos matadouros em Petrolina (PE) e Juazeiro (BA) obteve 449 amostras de abscessos de linfonodos superficiais e internos e de vísceras. Das amostras coletadas, 54,1% foram de linfonodo pré-escapular, seguido por abscessos no fígado. A frequência de casos da doença foi de 15,66% (437/2790) para animais abatidos em Petrolina e 6,31% (12/190) em Juazeiro.

Os prejuízos econômicos causados pela doença são elevados, uma vez que os abscessos determinam danos à pele e diminuição na produção de leite, lã e carne além da condenação de carcaças ou parte dessas, e significa uma limitação para exportação da carne (EGGLETON et al., 1991; PATON et al., 2003).

A infecção ocorre por via cutânea, quando o conteúdo do abscesso contamina feridas do hospedeiro ou a pele e mucosas íntegras dos animais sadios, ou onde existam soluções de continuidade (BURREL, 1981; BATEY, 1986b), ou, ainda, através de aspiração de aerossóis. Os caprinos podem se infectar pela ingestão do microrganismo ou estes podem penetrar em lesões na mucosa oral provocadas pela alimentação fibrosa (BURREL, 1981). As fezes também podem conter a bactéria (BURREL, 1981; BATEY, 1986a) e esta pode permanecer viável por até 8 meses no ambiente (FONTAINE et al., 2006).

A invasão bacteriana é facilitada, pois o agente produz uma exotoxina, a fosfolipase D, uma glicoproteína que possui ação nas células endoteliais, causando hemólise e aumento da permeabilidade vascular (COLLETT; BATH; CAMERON, 1994; WILLIAMSON, 2001; VESCHI, 2005). Esta exotoxina é também denominada hemolisina que possui ação necrosante (PEKELDER, 2000).

Corynebacterium pseudotuberculosis apresenta uma espessa camada de lipídios associados à parede celular que dificulta a fagocitose, aumentando sua virulência (JOLLY, 1966). Esta camada lipídica é também citotóxica e induz a caseificação das lesões (COLLETT; BATH; CAMERON, 1994; SONGER et al., 1990).

Devido à doença apresentar um período longo de incubação, é difícil a separação entre animais infectados e sadios (BATEY, 1986a). Os principais métodos de propagação desta doença entre uma propriedade e outra são a introdução de animais infectados (ALVES et al., 1997). O mecanismo de infecção e sua disseminação ocorrem por meio de descargas

purulentas de linfonodos (fistulados ou cortados) que contaminam o ambiente, instrumentos (ROBLES; OLAECHEA, 2001) e instalações (ALVES et al., 1997).

3.2 Características Clínicas e Patológicas

Os sinais clínicos da doença incluem aumento de tamanho de linfonodos superficiais, que ocasionalmente drenam pus espesso e esverdeado (PEKELDER, 2000). Os linfonodos da região submandibular, pré-escapular e pré-crural são os mais acometidos, enquanto que os linfonodos mediastínicos e mesentéricos são acometidos quando a infecção se dá por via respiratória ou digestiva. A evolução é crônica e geralmente os abscessos são observados a partir do oitavo mês de idade (RIET-CORREA, 2007).

Na forma visceral há a formação de abscessos nos linfonodos mediastínicos e mesentéricos, pulmões, fígado, rins, útero e baço (PEKELDER, 2000; RADOSTITS et al., 2002). A maioria dos animais com lesões nos linfonodos podem não apresentar outros sinais clínicos, mas alguns, com abscessos localizados nas vísceras podem apresentar uma síndrome de emagrecimento progressivo (RIET-CORREA, 2007) também denominado em ovinos de “síndrome da ovelha magra”, que leva à subfertilidade, queda na produção de leite e nascimento de menor número de cordeiros (RADOSTITS et al., 2002; WILLIAMSON, 2001; ANDERSON et al., 2005).

Os sinais clínicos associados aos abscessos no parênquima pulmonar e nos linfonodos mediastínicos incluem intolerância ao exercício, taquipneia, dispneia e tosse crônica (ANDERSON et al., 2005; SMITH; SHERMAN, 1994).

Ocasionalmente os abscessos se localizam no sistema nervoso central, principalmente na medula ou nas vértebras, causando compressão medular. Nestes casos ocorre paresia ou paralisia dos membros posteriores ou dos quatro membros dependendo da localização da lesão (RIET-CORREA, 2007).

A lesão macroscópica característica é a presença de abscessos nos linfonodos, que apresentam pus de consistência caseosa ou caseo-purulenta, de coloração esverdeada ou branco-acinzentada, inodoro e com consistência inicialmente pastosa que finalmente se torna dura e seca em forma de lâminas concêntricas, característica observada nos ovinos e rodeado por cápsula fibrosa. O aspecto laminado é característico da lesão e se produz porque à medida que a mesma aumenta de tamanho, a cápsula sofre um processo de necrose e posterior substituição por nova cápsula (PEKELDER, 2000; FONTAINE; BAIRD, 2008).

Os linfonodos regionais apresentam lesão caseosa (BATEY, 1986a) caracterizada pela presença de um infiltrado polimorfonuclear, principalmente neutrófilos. Há então a formação de microabscessos na área cortical do linfonodo acometido, os quais aumentam de tamanho e juntam-se, formando um único abscesso central encapsulado e necrosado (PEKELDER, 2000).

3.3. Patogenia

Após o agente penetrar no organismo do animal através de feridas, este é fagocitado por macrófagos. A parede celular da bactéria permite que o microrganismo resista à digestão pelas enzimas celulares e persista como um parasita intracelular facultativo no interior de fagócitos (COLLETT et al, 1994), ocorrendo à multiplicação intracelular, seguido de rompimento e morte celular. Esse processo é cíclico e os microrganismos se disseminam nos linfonodos superficiais principalmente os subilíacos e cervical superficial (BATEY, 1986a).

Nos primeiros estágios da infecção, os neutrófilos e macrófagos são as principais células envolvidas na resposta imune. A bactéria é fagocitada por macrófagos não ativados, incapazes de eliminá-la e se degeneram (HARD, 1972). De acordo com Willianson (2001) os lipídeos celulares das bactérias estão associados à formação dos granulomas.

A incapacidade de responder à infecção é atribuída à ausência de produção de óxido nítrico quando estimulados com componentes antigênicos de *C. pseudotuberculosis* (GREEN; NACY; MELTZER, 1991). A parede celular constitui o fator piogênico que se relacionam com os neutrófilos e estes transportam a bactéria aos nódulos linfáticos e com seu efeito citotóxico, acabam por destruir os fagócitos (COLLETT et al., 1994)

O *C. pseudotuberculosis* apresenta vários fatores de virulência, tais como os ácidos micólicos e os glicolipídios da parede celular, bem como também as exotoxinas fosfolipase D e a esfingomielinase. (ALEMAN; SPIER, 2001). Os mais importantes na patogenia da doença são a exotoxina fosfolipase (associada à cronicidade da infecção) e os ácidos micólicos. Ambos favorecem a inflamação, edema e a disseminação do agente durante a formação dos abscessos (SONGER, 1997). A fosfolipase D é uma proteína catiônica de 31 KDa capaz de hidrolisar a lisofosfatidilcolina, um componente importante da membrana citoplasmática. A colina é liberada, enquanto o fosfato de ceramida fica associado à membrana (MUCKLE et al., 1992). A degradação à ceramida resulta em lise celular (BROWN; OLANDER, 1987).

A esfingomielinase e a exotoxina fosfolipase D hidrolisam, respectivamente, a esfingomielina das membranas de células endoteliais de vasos sanguíneos e linfáticos. Com isso ocorre a hemólise das células endoteliais provocando o aumento da permeabilidade vascular, facilitação da disseminação do organismo patogênico no hospedeiro, bem como a formação dos abscessos (BURREL, 1981; BATEY, 1986b; SONGER, 1997). A fosfolipase D atua inibindo a quimiotaxia dos neutrófilos, a desgranulação de células de defesa e provoca a necrose e trombose linfática propiciando assim a multiplicação do agente patogênico. (ALEMAN; SPIER, 2001).

3.4 Diagnóstico e Controle

O diagnóstico presuntivo é realizado pela presença de abscessos nos linfonodos. Para o diagnóstico definitivo o agente deve ser isolado da secreção purulenta, obtida por biópsia com agulha ou coletada durante necropsia ou abate (ALVES; OLANDER, 1999; CETINKAYA et al., 2002)

Métodos complementares de diagnóstico incluem a sorologia (soro-aglutinação, inibição da hemólise sinérgica, imunodifusão, fixação de complemento e ELISA), que mensuram a concentração de anticorpos contra a toxina do *Corynebacterium pseudotuberculosis* (LOFSTED, 2002). É importante ressaltar que estes testes sorológicos podem apresentar resultados falso-positivos ou falso-negativos. Os animais devem ser testados somente após os seis meses de vida, visto que os anticorpos maternos podem fornecer resultados falso-positivos (WILLIAMSON, 2001).

Outro teste de diagnóstico eficaz é a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) que mostrou resultados promissores na genotipagem de cepas isoladas de ovelhas e cabras com linfadenite caseosa no Sertão do Pernambuco (ABREU et al., 2008b).

O diagnóstico da linfadenite Caseosa também pode ser feito por meio de um teste intradérmico que é realizado pela inoculação de 0,1 ml de linfadenina via intradérmica na região da escápula. Os animais infectados desenvolvem reações alérgicas locais, com maior intensidade após 48 horas e com aumento da espessura da dobra da pele variando entre 1,6 a 12,2mm. Nos animais sadios, a variação é de 0 a 1,5 mm (LANGENEGGER et al., 1987).

A Linfadenite Caseosa deve ser diferenciada de outras doenças que cursam com perda de peso como a tuberculose, paratuberculose e artrite-encefalite caprina crônica (CAE) (LOFSTEDT, 2002) assim como infecção por *Actinomyces pyogenes*, *Staphylococcus aureus* e linfossarcoma (ALVES; PINHEIRO; PIRES, 1997).

A erradicação da doença é difícil, pois uma vez estabelecida no rebanho, a terapia não é economicamente viável e também porque a identificação de sinais clínicos não é totalmente eficiente. Embora *C. pseudotuberculosis* seja um patógeno intracelular facultativo, a vacina inativada (bactéria morta) ou com fração protéica não oferece alto nível de proteção (PAULE et al., 2004). O controle deve basear-se também nas condutas de manejo do rebanho. É recomendado o isolamento dos animais doentes, drenagem dos abscessos e extirpação cirúrgica dos linfonodos afetados. Deve-se também desinfetar as instalações e material utilizado e queimar e enterrar o material purulento (ALVES; PINHEIRO, 2000).

REFERÊNCIAS

- ABREU, S. R. O. et al. Comparação genotípica de isolados de *Corynebacterium pseudotuberculosis* de caprinos e ovinos do sertão de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol.28, n.10, p. 481-487. 2008a.
- ABREU, S. R. O. et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de isolados de *Corynebacterium pseudotuberculosis* de caprinos e ovinos com linfadenite caseosa no sertão de Pernambuco, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 15, n. 3, p. 502-509. 2008b.
- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2 ed. Washington DC: Organization Mundial de La Salud, 2001. 413 p.
- ACYPRESTE, C. S et al. Uso da técnica do elisa indireto na detecção de anticorpos anti-*Mycobacterium paratuberculosis* em vacas em lactação. **Ciência Animal Brasileira**, v. 6, n. 1, p. 55-59. 2005.
- ALEMAN, M. ; SPIER S. J. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection. In: **Large Animal Internal Medicine**. 3.ed. Edited by Smith P.B. St Louis: Mosby Co., p.1078- 1084, 2001.
- ALENCAR, P. A. et al. Perfil sanitário dos rebanhos caprinos e ovinos no sertão de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 131-140, 2010.

ALVES, F. S. F.; OLANDER, H. Uso de vacina toxóide no controle da linfadenite caseosa em caprinos. **Veterinária Notícias**, v. 5, n. 1, p. 69-75. 1999.

ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. Linfadenite caseosa – Recomendações e medidas profiláticas. **Embrapa – Comunicado Técnico**, n. 33, p. 1-4. 2000.

ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; PIRES, P. C. Linfadenite caseosa: patogenia-diagnóstico- controle, Artigo Técnico. Documento n° 27, Embrapa Sobral CE, **Ministério da Agricultura e do Abastecimento**. 1997.

ANDERSON, D. E.; RINGS, D. M.; PUGH, D. G. Enfermidades do Sistema Tegumentar. In: PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. p. 232-233.

ANDERSON, W.; KING, J. M. *Mycobacterium avium* infection a pygmy goat. **The Veterinary Record**, v. 133, n. 20, p. 502. 1993.

ANDRADE, J. S. L. et al. Ocorrência e fatores de risco associados á infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos e ovinos do semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 116-120. 2012.

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: Instituto FNP. Ed. Gráfica, 2006. 340 p.

ARANAZ, A.; COUSINS, D.; MATEOS, A.; DOMINIGUEZ, L. Elevation of *Mycobacterium tuberculosis* subsp. caprae Aranaz et al. 1999 to species rank as *Mycobacterium caprae* comb. nov., sp. nov. Int. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, p. 1785-1789. 2003.

BANDEIRA, D. A. **Características sanitárias e de produção da caprinocultura nas microrregiões do Cariri do Estado da Paraíba**. 2005. 117 f. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

BATEY, R. G. Pathogenesis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. **Australian Veterinary Journal**, v. 63, p. 269-272. 1986a.

BATEY, R. G. The effect of caseous lymphadenitis on body condition and weight of Merino mutton carcasses. **Australian Veterinary Journal**, v. 63, n. 8, p. 268. 1986b.

BENESI, F. J. et al. Relato de caso: tuberculose em caprino (*capra hircus*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 2, p. 217-220. 2008.

BERNABÉ, A. et al. Morphopathology of caprine tuberculosis. I. Pulmonary Tuberculosis. **Annales de Veterinária de Murcia**, v. 6/7, p. 9-20. 1991.

BIBERSTEIN, E. L.; ZEE, Y. C. **Tratado de Microbiologia Veterinária**. Zaragoza: Editorial Acribia S. A, 1994. 673 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT). Vera Cecilia Ferreira de Figueiredo, José Ricardo Lôbo, Vitor Salvador Picão Gonçalves. - Brasília: MAPA/SDA/DSA.2006.188p.

BREES, D. J. et al. Immunohistochemical detection of *Mycobacterium paratuberculosis* in formalin-fixed, paraffin-embedded bovine tissue sections. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. Vol 12. p. 60-63. 2000.

BROWN, C. C. et al. Serodiagnosis of inapparent caseous lymphadenitis in goats and sheep, using the synergistic hemolysis-inhibition test. **American journal of veterinary research**. v. 47, n. 7, p. 1461-3.1986.

BURREL, D. H. Caseous lymphadenitis in goats. **Australian Veterinary Journal**, v. 57, p. 105-110. 1981.

ÇETINKAYA, B. et al. Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats by PCR. **Veterinary Microbiology**, v. 88, n. 1, p 75-83, 2002.

CHAMBERLIN, W. et al. Review article: *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* as one cause of Crohn's disease. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 15, n. 3, p. 337-346. 2001.

CHIODINI R. J.; VAN, K. H. J.; MERKAL, R. S. Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): the current status and future prospects. **Cornell Vet**, v. 74, p. 218-262. 1984.

CLARKE, C. J. The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species. **Journal of Comparative Pathology**, v. 116, p. 217-261. 1997.

CLARKE, C. J.; LITTLE, D. The pathology of ovine paratuberculosis: gross and histological changes in the intestine and other organs. **Journal of Comparative Pathology**, v. 114, p. 419-437. 1996.

COETSIER, C. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in infected tissues by new species - specific immunohistological procedures. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 5, p. 446-451. 1998.

COLGROVE, G. S.; THOEN, B. O. B.; MURPHY, C. D. Paratuberculosis in cattle: A comparison of three serologic tests with results of fecal culture. **Veterinary Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 183-187. 1989.

COLLETT, M. G.; BATH, G. F.; CAMERON, C. M. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections. In: **Infectious diseases of livestock with special reference to Southern Africa**. Oxford: Oxford University Press, 1994. p. 1387-1395.

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

CORDES, D. O. et al. Observações sobre a tuberculose causada pelo *Mycobacterium bovis* em ovinos. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 29, p. 60-62. 1981.

COUSINS, D. V. et al. *Mycobacterium bovis* infection in a goat. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, n. 7, p. 262-263. 1993.

COUSINS, D. V. et al. Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, p. 1305-1314. 2003.

CVETNIC, Z. et al. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 11, n. 6, p.652-658.2007.

CYRILLO F. C. et al. Teste de tuberculização em ovinos (*ovis aries*) experimentalmente sensibilizados. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 3, p. 191-197. 2007.

DABORN, C. J.; GRANGE, J. M. HIV/AIDS and its implications for the control of animal tuberculosis. **Brazilian Veterinary Journal**, v. 149. p. 405-17. 1993.

DALTO, A. G. C. **Achados clínicos e Patológicos de paratuberculose em búfalos (*Bubalus bubalis*) no Rio Grande do Sul**. 2011. 60f. Tese (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

DARCORSO FILHO, P. et al. Doença de Johne (paratuberculose) em bovinos nacionais. **Arquivos do Instituto Biológico Animal**, v. 3, p. 129-139. 1960.

DAVIDSON, R. M.; ALLEY, M. R.; BEATSON, N. S. Tuberculosis in a flock of sheep. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 29, n. 1/2, p. 1-2. 1981.

DIAS, L. D. et al. Isolamento do *Mycobacterium paratuberculosis* a partir de fezes de bovinos suspeitos de paratuberculose. In: **SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA UFMG**,11., 2002, Belo Horizonte. Anais eletrônico... Belo Horizonte: UFMG, 2002. Disponível em: <<http://www.ufmg.br/prpq/xisic/sic2002/resumos/1w2w44.html>>. Acesso em 29 Nov.2010.

DIRKSEN, G.; GRUNDER, H.; STOBER, M. R. **Exame clínico dos bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419 p.

DORELLA, F. A. et al. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. **Veterinary Research**, v. 37, p. 201-218. 2006.

DRIEMEIER, D. et al. Aspectos clínicos e patológicos da paratuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, n. ¾, p. 109-115. 1999.

DUCATI, R. G.; BASSO, L. A.; SANTOS, D. S. Micobactérias. In: TRABULSI, R. L.; ATERTHUM, F. (Eds.). **Microbiologia**. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2004. cap. 56.

DUPONT, O. **Nota do Jornal do Comércio de 5 de novembro**. p.8, 1915.

EAST, N.E., ENCEFALITE/ARTRITE CAPRINA, In: SMITH, B. P., **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**. 1 ed. São Paulo: Manole, 1993, 1738p.

EGGLETON, D. G. et al. Immunization against ovine caseous lymphadenitis: comparison of *Corynebacterium pseudotuberculosis* vaccines with and without bacterial cells. **Australian Veterinary Journal**, v. 68, p. 317-319. 1991.

FERNANDES, M. A. **Avaliação das características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite de cabras, das raças Saanen e Alpina, criadas no Estado de São Paulo**. 152 f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, 2002.

FONTAINE, M. C. et al. Vaccination confers significant protection of sheep against infection with virulent United Kingdom strain of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Vaccine**, v. 24, p. 5986-5996. 2006.

FONTAINE, M. C, BAIRD, G. J, Caseous lymphadenitis. **Small Ruminant**, v. 76, p. 42-48, 2008.

FREITAS, J. V. F. et al. **Do campus para o campo: Tecnologias para produção ovinos e caprinos**. 1 ed. Fortaleza: Gráfica Nacional, 2005. 288 p.

GARCIA MARTIN, J. F. Paratuberculose Ovina: Patogenesis. OVIS. **Tratado de Patologia e Producción Ovina**, v. 7, p. 25-36. 1990.

GOUVEIA, A. M. G. Aspectos sanitários da caprino-ovinocultura no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 2., 2003, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA, 2003. CD-ROM.

GRANGE, J. M.; COLLINS, C. H. Bovine tubercle bacilli and disease in animals and man: special article. **Epidemiology and Infection**, v. 92. p. 221-34. 1987.

GREEN, S. J.; NACY, C. A.; MELTZER, M. S. Cytokine-induced synthesis of nitrogen oxides in macrophages: a protective host response to *Leishmania* and other intracellular pathogens. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 50, n. 1, p. 93-103.1991.

GUTIÉRREZ, M.; TELLECHEA, J.; GARCÍA MARIN, J. F. Evaluation of cellular and serological diagnostics tests for the detection of *Mycobacterium bovis* infected goats. **Veterinary Microbiology**, v. 62, p. 281-290. 1998.

HARD, G. C. Examination by electron microscopy of the interaction between peritoneal phagocytes and *Corynebacterium ovis*. **Journal Medicine Microbiology**, v. 5, n. 4, p. 483-91. 1972.

HIGINO, S. S. S. et al. *Mycobacterium bovis* infection in goats from the northeast region of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 1437-1439. 2011.

HIGINO, S. S. S. **Tuberculose em caprinos e ovinos abatidos no semiárido da Paraíba, Brasil**. 2010. 48 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Área de Sanidade Animal) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2010.

HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999. 446 p.

HUCHZERMEYER, H. F. A. K.; BRÜCKNER, G. K.; BASTIANELLO, S. S. Paratuberculosis In: COETEZER, J. A. W.; THOMSON, G. R.; TUSTIN, R. C. **Infectious diseases of livestock with special reference to Southern Africa**. Oxford: Cape Town Oxford University Press, 1994. p. 1445-1457.

IBGE. **Efetivo dos rebanhos, segundo as grandes regiões e unidades da federação**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em 24 ago 2010.

JOLLY, R. D. Some observations on surface lipids of virulent and attenuated strains of *Corynebacterium ovis*. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 29, n. 1, p. 189-196. 1966.

JONES, R. L. Review of the economic impact of Johne' s disease in United States. In: MILNER, A. R.; WOOD, P. R. **Johne' s disease. Current Trends in Research Diagnosis and Management**. Melbourne:Commonwealth Scientific and Industrial Organization, 1989. p.46-50.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia Veterinária**. São Paulo: Manole, 2000. 1424 p.

JUBB V. F.; KENNEDY, P. C. **Pathology of Domestic Animals**. 5 ed. Philadelphia: Saunders, 2007. 2340 p.

KAKKAR, K. C.; SINGH, C. D. N.; SINHA, B. K. Caprine tuberculosis. **Indian Veterinary Journal**, v. 54, p. 936-937. 1977.

KREEGER J. M. Ruminant paratuberculosis - a century of progress and frustration. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 3. p. 373-383. 1991.

KUMAR, P. et al. Juvenile capri-paratuberculosis (JCP) in India: Incidence and characterization by six diagnostic tests. **Small Ruminant Research**, v. 73, p. 45-53. 2007.

LANGENEGGER, C. H., LANGENEGGER, J., COSTA, S. G. Alérgeno para o Diagnóstico da Linfadenite Caseosa em Caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 7, p. 27-32. 1987.

LIÉBANA, E. et al. Evaluation of the gamma-interferon assay for eradication of tuberculosis in goat herd. **Australian Veterinary Journal**, v. 76, n.1, p. 50-53. 1998.

LOFSTED, J. Distúrbios dos Sistemas Orgânicos. In: SMITH, B. P. **Medicina Interna de Grandes Animais**. 3 ed. Barueri: Manole, 2002. p. 583-584.

LUKE, D. Tuberculosis in the horse, pig, sheep and goat. **Veterinary Record**, v. 70, n. 26, p. 529-536. 1958.

MACIEL, F. C. **Manejo Sanitário de Caprinos e Ovinos**. Natal: Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte S. A (EMPARN), 2006. 32 p.

MAINAR-JAIME, R. C.; VÁZQUEZ-BOLAND, J. A. Factors associated with seroprevalence to *Mycobacterium paratuberculosis* in small-ruminant farms in the Madrid region (Spain). **Preventive Veterinary Medicine**, v. 34, p. 317-327. 1998.

MARCONDES A. G. **Micobacterioses de ovinos (*Ovis Áries*) do Estado de São Paulo, Brasil. Correlação entre teste imunológico, cultivo e histopatológico**. 2007. 93 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, 2007.

MEDEIROS, J. M. A. et al. Paratuberculose em caprinos e ovinos no estado da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 111-115. 2012.

MEDEIROS, J. M. et al. Mortalidade perinatal em caprinos no Semiárido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 201-206. 2005.

MEDEIROS et al. Potential application of diagnostic methods for controlling of bovine tuberculosis in Brazil. Braz. **The Journal Microbiology**. v.4, n.3, p. 531-541. 2010

MELO, L E. H. et al. Ocorrência e caracterização da tuberculose em caprinos leiteiros criados no estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n.9, p. 831-837. 2012.

MELO, L. E. H. et al. Prevalência de vacas reagentes à tuberculinização simultânea em rebanhos produtores de leite do tipo C do Estado de São Paulo. **Ciência Veterinária nos trópicos**, v. 2, n. 2, p. 91-99. 1999.

MELO, M. T. et al. Ocorrência da tuberculose caprina no Estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 2, p. 1-64. 2005.

MILNE, A. H. An outbreak of tuberculosis in goats in Tanganyica. **The Veterinary Record**, v. 647, p. 374-375. 1955.

MILLS A. E.; MITCHELL R. D.; LIM E. K.. *Corynebacterium pseudotuberculosis* is a cause of human necrotizing granulomatous lymphadenitis. **Pathology**. v. 29, p. 231-233. 1997

MILTGEN, J. et al. Two cases of pulmonary tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis* subesp. *Canneti*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, n. 11, p. 1350-1352. 2002.

MOMOTANI, E. et al. Role of M-cells and macrophages in the entrance of *Mycobacterium paratuberculosis* into domes of ileal Peyer's patches of calves. **Veterinary Pathology**, v. 25, p. 131-137. 1988.

MORRIS, R. S.; PFEIFFER, D. U.; JACKSON, R. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection. **Veterinary Microbiology**, v. 40, n. 1-2, p. 153-177. 1994.

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, 1992. p. 97-122.

MOTA, R. A. et al. Ocorrência de paratuberculose em búfalos (*Bubalus bubalis*) em Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 237-242. 2010.

MOTA, R. A. et al. Paratuberculose em um rebanho bovino leiteiro no Estado de Pernambuco, PE. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, p. 73-79. 2007.

MOURA COSTA, M. D. et al. Linfadenite caseosa dos caprinos no Estado da Bahia: distribuição geográfica da doença. **B. IBB**, v. 12, n. 1, p. 1-7. 1973.

MUCKLE, C. A. et al. Analysis of the immunodominant antigens of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Veterinary Microbiology**. v. 30, n. 1, p. 47-58. 1992.

NAKAJIMA, M.; MAIA, F. C. L.; MOTA, P. M. P. C. Diagnóstico da Paratuberculose em Minas Gerais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICOBACTÉRIAS, 1991, Bauru, **Anais...** Bauru, 1991.

NÓBREGA JÚNIOR, J. E. et al. Mortalidade perinatal de cordeiros no Semiárido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 171-178, 2005.

OIE. Paratuberculosis: Johne's Disease. 2009. Disponível em http://www.oie.int/Eng/ressources/paratuberculosis_EN.pdf. Acesso em 6 ago 2010.

OLIVEIRA, D. M. et al. Paratuberculose em ovinos e caprinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 67-72. 2010.

O'REILLY, L. M.; DABORN, C. J. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. **Tubercle and Lung Disease**, v.76, p.1-46. 1995.

PATON, M. W. et al. Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep flocks. **Australian Veterinary Journal**, v. 81, p. 91-95. 2003.

PAULE, M. M. et al. Experimental *Corynebacterium pseudotuberculosis* primary infection in goats: kinetics of IgG and interferon-g production, IgG avidity and antigen recognition by Western blotting. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 96, p. 129-139. 2003.

PEDROSA, K. Y. R. et al. Aspectos epidemiológicos e sanitários das criações de caprinos na zona noroeste do Rio Grande do Norte. **Revista Caatinga**, v. 16, n. 1/2, p. 17-21, 2003.

PEEL, M. M. et al. Human lymphadenitis due to *Corynebacterium pseudotuberculosis*: report of ten cases from Australia and review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, p. 185-191. 1997.

PEKELDER, J. J. Caseous lymphadenitis. In: MARTIN, W. B.; AITEKEN, I. D. **Diseases of Sheep**. 3 ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2000. p. 270-274.

PIGNATA et al. Prevalência da tuberculose caprina no semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 7, p. 526-532. 2009.

PIGNATA, W. A. et al. Tuberculose Caprina no Semiárido Brasileiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, p. 339-342. 2010.

PINHEIRO, R. R.; ALVES, F. S. F.; ANDREOLI, A. Principais doenças infecciosas de caprinos e ovinos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 1994, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA, 2000. CD-ROM.

PINHEIRO, S. R. et al. Surto de tuberculose em caprinos (*Capra hircus*): relato de caso. In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 2007, Campo Grande, **Anais...** Campo Grande, 2007.

POESTER F. P.; RAMOS E. T. Infecção experimental em caprinos com *Mycobacterium Paratuberculosis* de origem bovina. **Ciência Rural**, v. 24, p. 333-337. 1994.

PORTUGAL, M. A. S. et al. Ocorrência de paratuberculose no estado de Santa Catarina. **O Biológico**, v. 45, n. 1/2, p. 19-24. 1979.

PUGH, D. G. **Clínica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: Roca, 2004. 513 p.

RADOSTITS O. M. et al. **Clínica veterinária** – Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1770 p.

RAMOS, E. T. et al. Paratuberculose em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**, v. 6, n. 34, p. 28-32. 1986.

REBHUM, W. C. **Doenças do gado leiteiro**. São Paulo: Roca, 2000. 642 p.

REYNOSO, B. A. et al. Diagnostico de tuberculosis em hatos de caprinos empleando la prueba intradermica doble comparativa y cultivo bacteriologico. **Tecnica Pecuaria en Mexico**, v. 37, n. 1, p. 55-58. 1999.

RIET- CORREA, F.; GARCIA, M. Tuberculose. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de Ruminantes e Equinos**. 3 ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. p. 407-412.

RIET- CORREA, F; DRIEMEIER, D. Paratuberculose. In: Riet-Correa et al. **Doenças de Ruminantes e Equinos**. 3 ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. p.407-412.

ROBLES C.; OLAECHEA F. Salud y enfermedades de las majadas. En Ganadería ovina sustentable en la Patagonia Austral, Tecnología de Manejo Extensivo. **Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)**. Argentina. p. 225-243. 2001.

RODRIGUES, C. F. C. et al. Aspectos sanitários da caprinocultura familiar na região Sudoeste paulista. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 2 p. 1-64, 2005.

ROXO, E. Tuberculose Bovina: Revisão. **Arquivos do Instituto Biológico**, v . 63, n.2, p.91-97. 1996.

RUFINO-NETO, A. Programa de Controle da Tuberculose no Brasil. Situação Atual e Novas Perspectivas. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 10, n.3, p.129-138. 2001.

SÁ, M. C. A. **Incidência de linfadenite caseosa em caprinos e ovinos vivos e abatidos no Vale do São Francisco**. 2012. 71 f. Tese (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2012.

SALDANHA, S. V. et al. Caracterização das alterações buco-dentais de caprinos criados no Sertão e Zona da Mata do Estado de Pernambuco. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO (RAIB), 18., 2005, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Instituto Biológico, 2005.

SANTOS, J. A.; SILVA, N. L. Sobre a 1a. Observação da paratuberculose no Brasil. **Boletim da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 24, p. 5-14. 1956.

SEVA, J. et al. Caprine tuberculosis eradication program: An immunohistochemical study, **Small Ruminant Research**, v. 46, p. 107-114.

SHARAN, A. et al. A note on tuberculosis in goats. **Indian Veterinary Medical Journal**, v. 12, n. 3, p. 184-186. 1988.

SHERMAN, D.M.; MARKHAM, R. J. F; BATES, F. Agar gel immunodiffusion test for diagnosis of clinical paratuberculosis in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.185, n.2, p.179-182.1984

SILVA, N. M. Estudos sobre a paratuberculose. VI. Infecção experimental de ovinos com *Mycobacterium paratuberculosis* de origem bovina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 3, p. 285-289. 1968.

SILVA, P. E. G. et al. Teste de tuberculinização em caprinos (*Capra hircus*) experimentalmente sensibilizados. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 880-886. 2006.

SILVA, T. I. B. et al. Tuberculose caprina: mitos ou risco iminente à saúde pública no estado de pernambuco? In: X JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – JEPEX, 2010, Recife. **Anais...** Recife: UFRPE, 2010.

SMITH, M. C.; SHERMAN, D. M. Subcutaneous Swellings. In: **Goat Medicine**. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1994. p. 46-49.

SMITH, P. B. Large animal internal medicine. 4 ed. St Louis: Mosby, 2003. 1784 p.

SOLIMAN, K. N. et al. An outbreak of naturally acquired tuberculosis in goats. **The Veterinary Record**, v. 65, n. 27, p. 421-425, 1953.

SONGER, J. G. et al. Cloning and expression of the phospholipase D gene of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in Escherichia coli. **Infect. Immunology**, v. 58, n. 1, p. 131-136. 1990.

SONGER, J. G. Bacterial phospholipases and their role in virulence. **Trends in Microbiology**, v. 5, n. 4, p. 156-61, Apr 1997.

SOUZA, A.V. et al. A importância da tuberculose bovina como zoonose. **Revista Higiene Alimentar**, n.59, São Paulo-SP. 2002.

SOUZA, M.F., et al. Linfadenite caseosa em ovinos deslanados abatidos em um frigorifico da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.31, n.3, p. 224-230. 2011.

STABEL, J. R. An improved method for cultivation of *Mycobacterium paratuberculosis* from bovine fecal samples and comparison to three other methods. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 9, p. 375-380, 1997.

STEHMAN, S. M. Moléstia de Johne (Paratuberculose). In: SMITH B. P. **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**. São Paulo: Manole, 1990. p. 823-829.

STING, R.; STENG, G.; SPENGLER, D. Serological studies on *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in goats using enzyme-linked immunosorbent assay. **Journal of Veterinary Medicine**, n. 45, p. 209-216. 1998.

THOEN, C. O. Tuberculosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 193, n. 9, p.1045-1048. 1988.

THOREL, M. F. Tuberculose de la chèvre: diagnostic biologique. **Annales de Recherches Veterinaires**, v. 11, n. 3, p. 251-257. 1980.

TIMONEY, J. F.; GILLESPIE, J. H.; SCOTT, F. W. **Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals**. 8 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1988. 951p.

VESCHI, J. L. Linfadenite caseosa. In: VII ENCONTRO DE CAPRINOCULTORES DO SUL DE MINAS E MÉDIA MOGIANA, 2005, Espírito Santo do Pinhal. **Anais...** Disponível em <http://www.caprtec.com.br-anais>. Acesso em 26 jun 2006.

WHIPPLE, D. L.; CALLIHAN, D. R.; JARNAGIN, J. L. Cultivation of *Mycobacterium paratuberculosis* from bovine fecal specimens and a suggested standardized procedure. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 3, p. 368-373. 1991.

WHITLOCK, R. H.; BUERGELT, C. Preclinical and clinical manifestations of paratuberculosis (including pathology). **Veterinary Clinics of North America**, v. 12, n. 2, p. 345-356. 1996.

WILLIAMSON, L. H. Caseous Lymphadenitis in small ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 17, n. 2, p.3 59-371. 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Report of the who meeting on zoonotic tuberculosis (*Mycobacterium bovis*). Geneva. FAO/WHO/CDS/VPH. **Nota Técnica**, n. 130, 1993, 27 p.

ARTIGO 1

DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS GRANULOMATOSAS EM OVINOS E CAPRINOS

ABATIDOS EM MATADOURO MUNICIPAL NO ESTADO DE ALAGOAS

(Formatado para ser encaminhado para o periódico Pesquisa Veterinária Brasileira)

Diagnóstico de doenças granulomatosas em ovinos e caprinos abatidos em matadouro municipal no Estado de Alagoas¹

Flávia Figueiraujo Jabour², Raissa Rapôso de Menezes³, Vivina Soares Ferreira³, Ana Paula de Castro Pires³, José Andreey Almeida Teles², Marilene de Farias Brito Queiroz⁴, Rinaldo Aparecido Mota⁵ e Andrea Alice da Fonseca Oliveira⁵

ABSTRACT.- Jabour F.F., Mota R.A., Menezes R.R., Ferreira V.S., Pires A.P.C., Teles J.A.A., Queiroz M.F.B. & Oliveira A.A.F. 2013. [**Diagnosis of granulomatous diseases in sheep and goats slaughtered in a municipal slaughterhouse in the state of Alagoas, Brazil.**] Diagnóstico de doenças granulomatosas em ovinos e caprinos abatidos em um matadouro municipal do Estado de Alagoas. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Laboratório de Patologia Veterinária, Escola de Medicina Veterinária, Centro Universitário Cesmac, Rua Divaldo Suruagy s/n, Quadra 4, Lote 4, Praia do Francês, Marechal Deodoro, AL 57160-000, Brazil. E-mail: flaviajabour@yahoo.com.br

The objective of this study was to diagnose the occurrence of granulomatous diseases such as tuberculosis, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in sheep and goats slaughtered in a municipal slaughterhouse, State of Alagoas, Brazil. Two hundred animals had been slaughtered during four visits made to the slaughterhouse from 2009 to 2011. Among these two hundred animals, 39 sheep and 3 goats presented macroscopic lesions in several body tissues. Histopathological, immunohistochemistry and bacteriological exams were executed for diagnostic. Lesions in the gut compatible with alterations caused by *Oesophagostomum* sp. were found in the sheep and goats. All samples were negative in immunohistochemistry for *Mycobacterium* spp. In the bacteriological test, *Corynebacterium pseudotuberculosis* was isolated from lung, lymph nodes, small and large gut of 18 sheep and from the large gut of one goat. Alterations of tuberculosis and paratuberculosis were not observed, however lesions of other economically important diseases were found, such as caseous lymphadenitis associated with alterations of oesophagostomiasis e fascioliasis.

INDEX TERMS: Small ruminants, caseous lymphadenitis, tuberculosis, paratuberculosis, oesophagostomiasis, fascioliasis, diagnostic.

RESUMO.- Objetivou-se com este trabalho diagnosticar a ocorrência de doenças granulomatosas como tuberculose, paratuberculose e linfadenite caseosa em ovinos e caprinos abatidos em um matadouro municipal no Estado de Alagoas. Foram estudados 200 animais abatidos nos anos de 2009 a 2011. Destes, 39 ovinos e três caprinos apresentaram lesões macroscópicas em vários tecidos. Para o diagnóstico foram realizados exames histopatológico e bacteriológico, e imunohistoquímica. Observou-se, ao exame histopatológico, lesões intestinais compatíveis com *Oesophagostomum* sp. em ovinos e caprinos e com fasciolose no fígado de ovinos. Na imunohistoquímica todas as amostras foram negativas para *Mycobacterium* spp. Ao exame bacteriológico isolou-se *Corynebacterium pseudotuberculosis* nos tecidos de 18 ovinos (pulmão, fígado, linfonodos, intestino delgado e intestino grosso) e de um caprino (intestino grosso). Não foi diagnosticada tuberculose e paratuberculose nos animais estudados, no entanto observou-se a ocorrência de outras doenças economicamente importantes como linfadenite caseosa associada a lesões de oesofagostomose e fasciolose.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui um efetivo de 17,381 milhões de ovinos e 9,313 milhões de caprinos. Desse efetivo Nacional 56,7% e 91% encontram-se na região do Nordeste. Em Alagoas, a população ovina e caprina corresponde 206.743 e 67.873 animais, respectivamente (IBGE 2011).

Algumas doenças granulomatosas que acometem os caprinos e ovinos devem ser melhor investigadas, entre elas destacam-se a tuberculose, paratuberculose e linfadenite caseosa. Outras doenças como as endoparasitoses e ectoparasitoses constituem problemas sanitários economicamente importantes e frequentes para os pequenos ruminantes nesta região (Maciel 2006, Alencar et al. 2010).

A tuberculose é uma doença infecciosa granulomatosa crônica causada pelo *Mycobacterium bovis* (Hirsh & Zee 1999). Em caprinos, *Mycobacterium avium* e *Mycobacterium tuberculosis* já foram isolados ocasionalmente (Lesslie et al. 1960, Bernabé et al. 1991) bem como *M. caprae* (Aranaz et al. 2003) e *M. pinnipedii* (Cousins et al. 2003). É uma doença reemergente nessas espécies (Silva et al. 2010) e sua ocorrência encontra-se associada à proximidade com rebanhos bovinos (Pugh 2004). No Nordeste brasileiro há relatos da tuberculose em caprinos no Estado de Pernambuco (Melo et al. 2005, Saldanha et al. 2005, Silva et al. 2010) e Paraíba (Pignata et al. 2010, Higino 2010). A forma clínica e os aspectos patológicos, epidemiológicos e zoonóticos da tuberculose nos pequenos ruminantes são semelhante à observada nos bovinos (Bernabé et al. 1991).

A paratuberculose é uma enterite granulomatosa crônica causada pelo *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). Na região Nordeste, a doença foi relatada no Estado da Paraíba em bovinos (Mota et al. 2009). Em Pernambuco há relatos de sua ocorrência em bubalinos (Mota et al. 2010) e bovinos (Mota et al. 2007). Há fortes indícios de que o agente esteja envolvido na etiologia de uma ileocolite granulomatosa em humanos, conhecida como Doença de Crohn (Chamberlin et al. 2001, Riet Correa & Driemeier, 2007). A infecção foi reproduzida experimentalmente em ovinos por Silva (1968) e em caprinos por Poester e Ramos (1994), e no Semiárido Paraibano, Oliveira et al. (2010) diagnosticaram esta doença em ovinos e caprinos. Em pequenos ruminantes, os sinais clínicos, quando presentes, são inespecíficos, podendo ocorrer emagrecimento progressivo e emaciação, além de fezes amolecidas (Radostits et al. 2007).

Para confirmação do diagnóstico da tuberculose e paratuberculose na avaliação post-mortem é importante a realização dos exames histopatológicos dos granulomas (Radostits et

al. 2007), incluindo técnicas de coloração especial como Ziehl-Neelsen (Dirksen et al. 1993) e imunohistoquímica (Brees et al. 2000) e também de exames bacteriológicos para confirmar a etiologia (Radostits et al. 2007).

A linfadenite caseosa determina o aparecimento de lesões granulomatosas semelhantes às da tuberculose (Marcondes et al. 2007) e devem ser realizados os exames histopatológicos e microbiológicos para a diferenciação (Radostits et al. 2007). A doença é endêmica no Nordeste brasileiro sendo um diagnóstico diferencial importante que assume semelhanças quanto ao quadro clínico-patológico em relação à tuberculose e a outras micobacterioses (Riet-Correa & Garcia 2007). No Nordeste brasileiro a doença já foi registrada em vários Estados, inclusive na Bahia (Moura Costa et al. 1973), em Pernambuco e na Paraíba (Abreu et al. 2008 e Andrade et al. 2012). A lesão característica é a presença de abscessos nos linfonodos com material purulento de consistência caseosa ou caseo-purulenta de cor esverdeada ou branco-acinzentada (Riet-Correa & Garcia 2007), que com o tempo se torna endurecida formando lâminas dispostas concentricamente, mais evidenciadas nos ovinos (Pekelder 2000, Radostits et al. 2007). Pode ocorrer também o aparecimento de área central necrosada (Pekelder 2000) rodeada por cápsula fibrosa. Outros achados incluem infiltrado inflamatório, principalmente neutrofilico e formação de microabscessos nos linfonodos, os quais clinicamente apresentam-se aumentados de tamanho (Pekelder 2000, Radostits et al. 2007).

O caráter zoonótico das doenças granulomatosas, além das perdas econômicas e a escassez de dados na literatura sobre estas enfermidades no Estado de Alagoas justifica a realização de estudos para investigar sua ocorrência e distribuição, visando estruturação de estratégias eficazes de controle e profilaxia. Considerando-se a importância da caprinovinocultura para a região Nordeste do Brasil, objetivou-se neste estudo diagnosticar a etiologia das lesões granulomatosas em caprinos e ovinos abatidos em um matadouro municipal no Estado de Alagoas.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo obteve aprovação do comitê de ética da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob o protocolado com o número 23082.016276/2010. As amostras foram coletadas em um matadouro municipal localizado no Benedito Bentes, Maceió, Estado de Alagoas no período de 2009 a 2011. Foram examinados 200 animais (178 ovinos e 22 caprinos), e coletadas amostras de tecidos de 42 animais (39 ovinos e três caprinos) oriundos

de diversos municípios do estado de Alagoas (Quadro 1). Após a coleta, as amostras foram identificadas, refrigeradas e enviadas para o laboratório, para a realização do exame bacteriológico. As amostras destinadas aos exames histopatológico e imunohistoquímica foram fixadas em formol a 10%, neutralizado com carbonato de cálcio.

Para o diagnóstico da tuberculose, paratuberculose e linfadenite caseosa foram colhidos fragmentos de pulmão, linfonodos mediastínicos, intestinos, linfonodos mesentéricos e fígado com granulomas, abscessos ou com outras lesões macroscópicas.

Após a fixação dos tecidos, todos os fragmentos foram desidratados, submetidos ao processo de clarificação pelo xilol, incluídos em parafina, mantidos em estufa em temperatura de 60 °C, em um processo de três banhos, cortados em micrótomo rotativo a 5 μ e corados pela hematoxilina-eosina; para detecção de bactérias álcool-ácido-resistentes utilizou-se a coloração de Ziehl-Neelsen (Behmer et al. 1976).

Realizou-se a técnica de imunohistoquímica em todos os tecidos que apresentaram lesões caseogranulomatosas. As lâminas com os cortes dos tecidos foram impregnadas com anticorpo anti-*Mycobacterium* spp. Para o processamento das amostras utilizou-se o método do complexo avidina-biotina peroxidase através do kit comercial LSAB (Dako) e para a revelação das reações, o cromógeno DAB, 3,3'-diaminobenzina (Dako) ou AEC, Aminoetil-carbamazole (Dako), de acordo com as instruções do fabricante. Controles negativos e positivos foram incluídos em todas as análises.

Para o diagnóstico da linfadenite caseosa, o conteúdo purulento obtido dos abscessos foi cultivado em ágar base acrescido de 5% de sangue desfibrinado de ovino; as placas foram mantidas em estufa bacteriológica a 37°C por um período de até 72 horas de incubação. Após o isolamento realizou-se a coloração de Gram e provas bioquímicas de identificação, de acordo com Carter (1988).

RESULTADOS

Dos 200 animais examinados na linha de abate foram observadas lesões macro e microscópicas em 39/178 ovinos e 3/22 caprinos. No exame microbiológico observou-se crescimento bacteriano nos tecidos de 33/39 ovinos e nos três caprinos. Os resultados estão ilustrados no quadro 1 e as principais características macro e microscópicas no quadros 2 e 3.

Dos 42 animais com lesões (39 ovinos e três caprinos), 13 ovinos e três caprinos apresentaram nódulos fibrocalcários no intestino (Figuras 1A/B) caracterizados histologicamente pela formação de granulomas com o centro necrosado, com ou sem focos de

mineralização, localizados desde a submucosa até a subserosa, circundados por uma cápsula fibrosa, células inflamatórias mononucleares e fibroblastos (Figura 1C). Destes animais, cinco ovinos e um caprino apresentaram, ao exame histológico, restos de larvas de parasitos em meio à necrose (Figura 1D), lesões estas sugestivas de oesofagostomose.

Em linfonodos mesentéricos de 3/39 ovinos foram observadas lesões circunscritas, caracterizadas por nódulos ou áreas endurecidas que rangiam ao corte. Essas lesões histologicamente revelaram áreas de necrose caseosa, infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear com calcificação, circundado por tecido conjuntivo fibroso. Além disso, observou-se em outros 4 dos 39 linfonodos, áreas com o centro de coloração mais amarelada, com presença de abscessos, cercadas por uma cápsula mais firme. Microscopicamente haviam presença de células gigantes e outros com presença de infiltrado piogranulomatoso rico em neutrófilos.

Nos pulmões foram observadas lesões macroscópicas em nove ovinos, e destes, quatro tinham lesões granulomatosas e abscedativas. À histopatologia observaram-se focos de necrose caseosa, circundados por tecido conjuntivo fibroso e presença de células gigantes.

Lesões hepáticas foram observadas em 15 ovinos, sendo que em 3 evidenciou-se macroscopicamente áreas focais granulomatosas, endurecidas ao corte, e de coloração amarelada e ou esbranquiçada. (Figuras 2A/B)

Em três dos 15 animais com lesões macroscópicas, ao exame histopatológico foram observadas hiperplasia e proliferação de ductos biliares (Figura 2E). Em sete ovinos (7/15) havia inflamação predominantemente mononuclear localizada no espaço porta ou na região periportal, e em um observaram-se células polimorfonucleares, áreas de necrose, desaparecimento de hepatócitos com substituição por tecido conjuntivo fibroso (Figura 2C), além de bilestase, dilatação de vasos linfáticos em área cirrótica e presença de parasitos no lúmen de alguns ductos biliares (Figuras 2D/E/F)), lesões estas sugestivas de fasciolose.

Observou-se isolamento de *Corynebacterium pseudotuberculosis* nos tecidos de 18/33 ovinos e em 1/3 caprino. Os diagnósticos baseados em lesões anatomopatológicas e nos resultados dos exames laboratoriais obtidos de ovinos e caprinos encontram-se detalhados no quadro 4.

Lesões histológicas características de linfadenite caseosa foram observadas em sete ovinos, e em três destes foi isolado o *C. pseudotuberculosis*. Também isolou-se *C. pseudotuberculosis* dos nódulos fibrocalcários observados em quatro ovinos e em um caprino.

Todas as amostras de tecidos com lesões granulomatosas foram negativas pela coloração de Ziehl-Neelsen, e também negativas na imunohistoquímica para a pesquisa de bactérias do gênero *Mycobacterium* spp.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo descartaram a presença de tuberculose e paratuberculose nos caprinos e ovinos estudados em um abatedouro municipal no estado de Alagoas. É importante considerar que neste estudo realizou-se uma amostragem dos animais abatidos e os resultados obtidos referem-se a esta população. Outros estudos devem ser realizados para descartar a ocorrência destas doenças granulomatosas nos rebanhos de Alagoas. Isto pode ser obtido por meio de diagnóstico empregando técnicas moleculares, microbiológicas e histológicas.

Por outro lado, o diagnóstico bacteriológico confirmou a ocorrência de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em aproximadamente 60% dos ovinos e 33% dos caprinos. A linfadenite caseosa é uma doença endêmica e importante em ovinos e caprinos no Nordeste brasileiro (Riet- Correa & Driemeier, 2007). Além disso, trata-se de uma zoonose e nas últimas décadas tem aumentado os registros de infecção em indivíduos imunossuprimidos (Smith 2003). De acordo com Peel et al (1997) e Mills et al. (1997), a infecção em humanos manifesta-se com o mesmo quadro clínico de ovinos e caprinos. Alencar et al. (2010) relataram em trabalho sobre perfil sanitário de caprinos e ovinos realizado no Sertão de Pernambuco que não houve diminuição no número de casos da doença mesmo com a utilização de vacinas ou o conhecimento dos fatores de risco responsáveis pela introdução e disseminação da doença nos rebanhos.

A frequência de ovinos e caprinos abatidos, positivos para linfadenite caseosa, observada neste estudo é semelhante ao resultado obtido por Higino (2010), em seus estudos realizados em um matadouro público no município de Patos, Paraíba. Nestes animais foram isolados e tipificados microrganismos de linfonodos hipertrofiados ou lesões macroscópicas sugestivas de tuberculose, e houve isolamento de *C. pseudotuberculosis* em 60,71% dos ovinos e 66,66% dos caprinos.

As lesões granulomatosas encontradas nos intestinos delgado e grosso, linfonodos superficiais e mesentéricos, fígado e pulmão dos animais no presente estudo apresentaram características microscópicas muito semelhantes àquelas causadas pelo *M. bovis*, contudo o resultado da imunohistoquímica utilizando-se anticorpo anti-*Mycobacterium* spp. não

confirmou este achado. Algumas dessas lesões foram causadas pelo *C. pseudotuberculosis*, o que foi confirmado através do cultivo bacteriano. Também é importante ressaltar que em alguns animais deste estudo esta bactéria foi isolada de lesões provocadas pelo *Oesophagostomum* spp.

De acordo com Urquhart et al. (1998), Fonseca (2006), e Ruas e Berne (2007), os nódulos calcificados de tamanhos variados, contendo larvas em seu interior na mucosa do intestino delgado ou grosso são causados por *Oesophagostomum* spp. Estas lesões são semelhantes às observadas neste estudo. O nematódeo *Oesophagostomum* spp. parasita o intestino de ovinos e caprinos e determina a formação de nódulos caseosos calcificados e que em alguns casos pode ser visto em meio às lesões de necrose e calcificação. O exame macroscópico das lesões associado ao exame histopatológico são característicos dessa parasitose. Em caprinos, a espécie associada à formação desses nódulos é o *O. columbianum*. (Urquhart et al. 1998, Fonseca 2006, Ruas & Berne 2007).

Na maioria das lesões granulomatosas dos animais em que foi isolado o *C. pseudotuberculosis* (quadro 1), observaram-se lesões macroscópicas e histopatológicas causadas pelo *Oesophagostomum* sp. Isso significa que nos animais deste estudo observou-se presença concomitante de infecção por *C. pseudotuberculosis* em nódulos granulomatosos de *Oesophagostomum* spp. A presença concomitante de mais de um agente em uma mesma lesão já foi descrita anteriormente por Marcondes et al. (2007). É provável que inicialmente o parasita possa causar a lesão granulomatosa e em seguida abrir porta de entrada à infecção pelo *C. pseudotuberculosis*. Marcondes et al. (2007) identificaram dois ovinos com lesões histológicas onde ocorreu simultaneamente a associação de *C. pseudotuberculosis* e micobactérias.

Benesi et al. (2006) afirmaram que a ausência de relatos sobre a tuberculose causada por *Mycobacterium bovis* em caprinos e ovinos no país poderia estar ocorrendo por falhas de diagnóstico, pois a linfadenite caseosa tem ampla distribuição nas criações brasileiras. No entanto, nos dias atuais já foram diagnosticados vários focos da doença no Brasil, principalmente na região Nordeste.

Em trabalho realizado por Higino (2010) observou-se que nos exames macroscópicos, as lesões provocadas por micobactérias ambientais e *C. pseudotuberculosis* não foram diferenciáveis das provocadas pelo complexo *M. tuberculosis* tanto em caprinos como nos ovinos. Marcondes (2007) também concluiu que nos exames macroscópicos e histopatológicos as lesões causadas por *M. flavescens* 1, *M. kansasii* e *C. pseudotuberculosis* em ovinos não puderam ser diferenciadas.

Na paratuberculose causada por *Mycobacterium avium* subesp. *paratuberculosis*, as lesões histológicas em ovinos e caprinos estão confinadas principalmente nos linfonodos mesentéricos, íleo e válvula ileocecal (Riet- Correa & Driemeier, 2007), contudo estas lesões não foram observadas nos animais deste estudo.

A proliferação e hiperplasia de ductos biliares, necrose e inflamação rica em eosinófilos e células mononucleares como linfócitos e macrófagos observados em fígados de alguns dos ovinos abatidos, contendo em seu lúmen parasitos são compatíveis com lesões causadas por trematódeos do gênero *Fasciola* sp. Duménigo et al. (1999) e Urquhart et al. (1998) relataram que este parasito se localiza no interior dos ductos biliares, podendo levar a obstrução e bilestase, o que também foi observado em quatro animais deste estudo. Já as lesões de necrose e fibrose observadas em outros animais, de acordo com Berne (1994) e Müller et al. (2003), também podem estar associadas a este parasito. Em um trabalho realizado por Bostelmann et al. (2000) foram realizados exames histopatológicos comparativos em fígados de bovinos e bubalinos parasitados com *F. hepatica* e verificaram também as mesmas lesões descritas no presente estudo.

Embora existam poucos registros na região Nordeste do Brasil sobre a ocorrência da *Fasciola* sp., em um estudo realizado por Abílio e Watanabe (1998) observou-se a ocorrência de *Lymnaea columella*, hospedeiro intermediário da *F. hepatica*, no Estado da Paraíba e há relatos de infecção natural de *Lymnaea columella* pelo trematódeo *Fasciola hepatica* no Estado da Bahia (Paraense 1983); em municípios alagoanos banhados pelo rio São Francisco também foram observados ovos de *Fasciola* sp. em fezes de bovinos (Feitosa et al. 2010, Feitosa et al. 2011). No entanto, a presença do parasito no fígado de bovinos, ovinos e caprinos ainda não foi relatada na região Nordeste. As lesões hepáticas relatadas em nosso estudo são compatíveis com as da fasciolose e merecem maior atenção e a realização de estudos complementares, pois se trata de uma zoonose pouco estudada no Estado de Alagoas.

CONCLUSÕES

A maioria dos casos de doenças granulomatosas encontradas neste estudo a linfadenite caseosa foi a mais frequente.

No estudo realizado utilizando-se as técnicas de coloração de Ziehl-Neelsen e imunohistoquímica não se confirmou a ocorrência de tuberculose e paratuberculose nos tecidos com granulomas coletados dos ovinos e caprinos.

Lesões compatíveis com fasciolose foram observadas no fígado de alguns dos ovinos estudados, o que indica o primeiro registro desta doença no estado de Alagoas.

REFERÊNCIAS

Abílio F.J.P., Watanabe T. 1998. Ocorrência de *Lymnaea collumela* (Gastropoda: Lymnaeidae), hospedeiro intermediário da *Fasciola hepatica*, para o Estado da Paraíba, Brasil. Rev. Saúde Públ. 32: 185-186.

Abreu S. R. O, Mota R. A., Pinheiro Júnior J. W., Rosinha G M S.& Castro R. S. 2008. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de isolados de *Corynebacterium pseudotuberculosis* de caprinos e ovinos com linfadenite caseosa no Sertão de Pernambuco, Brasil. Vet. Zoot.15:502-509.

Alencar, S.P., Mota, R. A., Coelho, M.C.O.C., Nascimento, S.A., Abreu,S.R.O. & Castro, R.S. 2010. Perfil sanitário dos rebanhos caprinos e ovinos no Sertão de Pernambuco. Cien. Anim. Bras. 11: 131-140. 1

Andrade J.S.L., Azevedo S.S., Teles J.A.A., Higino S.S.S. & Azevedo E.O. 2012. Ocorrência e fatores de risco associados à infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos e ovinos do semiárido paraibano. Pesq. Vet. Bras. 32: 116-120.

Aranaz A., Cousins D., Mateos A., Dominiguez L. 2003. Elevation of *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* to species rank as *Mycobacterium caprae* comb. nov., sp. nov. [Int. J. Syst. Evol. Microbiol.](#) 53:1785-1789.

- Bernabé A. Gómez, M.A., Navarro J. A., Gómez S., Sánchez J., Sidrach J., Menchen V., Vera A. & Sierra, M. A.. 1991. Morphopathology of caprine tuberculosis. I. Pulmonary Tuberculosis. *Annales de Veterinária de Murcia*. 6: 9-20.
- Berne M. E. A. 1994. Identificação e purificação de antígenos somáticos de formas adultas de *Fasciola hepática* através de anticorpos monoclonais: ensaio de imunoproteção e imunodiagnóstico. Tese (doutorado). Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas, 168p.
- Benesi F. J., Pinheiro S.R., Maiorka P. C., Benites N. R. Birgel Junior E. H. & Gregory L. 2006. Tuberculosis in goat in brazil: case report. in: 24th world buiatrics congress. nice – França. anais.1 cd-rom.
- Bostelmann, S.C.W., Luz, E., Thomaz Soccol, V., & Cirio, S.M.. 2000. Histopatologia comparativa em fígados de bovinos, bubalinos e ovinos infectados por *Fasciola hepática*. *Arch. Vet. Sci.* 5:95-100.
- Behmer O. A., Tolosa E. M .C., Freitas Neto A. G. 1976. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. Edart, EDUSP, São Paulo. 259p.
- Brees D. J., Reimer S. B., Cheville N. F., Florance A & Thoen C.O. 2000. Immunohistochemical detection of *Mycobacterium paratuberculosis* in formalin-fixed, paraffin-embedded bovine tissue sections. *J. Diagn. Invest.* 12: 60-63.
- Brum K. B., Haraguchi M., Lemos R. A. A., Riet-correa F. & Fioravanti M. C. S. 2007. Crystal-associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. *Pesq. Vet. Bras.* 27: 39-4.
- Carter G. R. 1988. Fundamentos de Bacteriologia e Micologia Veterinária. 1ª. ed. Roca, São Paulo. 249p.
- Chamberlin W., Graham D.Y., Hulten K., El-Zimaity H.M.T., Schwartz M.R., Naser S., Shafran I. & El-Zaatari F.A.K. 2001. Review article: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* as one cause of Crohn's disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 15:337-346.

Cousins D.V., Bastida R., Cataldi A., Quse V., Redrobe S., Dow S., Duignan P., Murray A., Dupont C., Ahmed N., Collins D.M., Butler W.R., Dawson D., Rodriguez D., Loureiro J., Romano M.I., Alito A., Zumarraga M. & Bernardelli A. 2003. Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53:1305-1314.

Dirksen G., Grunder H., Stober, M. 1993. Exame clínico dos bovinos. 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 419p.

Driemeier D., Colodel E.M., Seitz A.L., Barros S.S. & Cruz C. 2002. Study of experimentally induced lesions in sheep by grazing *Brachiaria decumbens*. Toxicon 40:1027-1031.

Duménigo B., Espino A., Finlay C., Meza M. 1999. Kinetics of antibody based antigen detection in serum and faeces of sheep experimentally infected with *Fasciola hepatica*. Vet. Parasitol. 86: 23-31.

Feitosa B. C. O., Leite E. F., Nascimento G. G., Cruz N. L. N., Silva L. A., Porto W. J. A. 2010. Frequência de *Fasciola hepatica* em bovinos provenientes de municípios alagoanos banhados pelo Rio São Francisco. Congresso Acadêmico UFAL. Anais.

Feitosa B. C. O., Leite E. F., Nascimento G. G., Cruz N. L. N., Silva L. A., Porto W. J. A. 2011. Ocorrência de *Fasciola hepatica* em bovinos no Estado de Alagoas. XVI Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. Anais.

Fonseca A. H. 2006. Helminthoses Gastrointestinais dos Ruminantes. Material Didático. Disciplina de Doenças Parasitárias UFRRJ.

IBGE. Efetivo dos rebanhos, segundo as grandes regiões e unidades da federação. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 09 de agosto 2012.

Higino, S.S.S. 2010. Tuberculose em caprinos e ovinos abatidos no semiárido da Paraíba, Brasil. 48f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Área de Sanidade Animal) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos.

Hirsh D. C., Zee Y.C. 1999. Microbiologia Veterinária. 1ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 446p.

Lesslie I. W., Ford E. J. H., Linzell J. L. 1960. Tuberculosis in goats caused by the avian type tubercule bacillus. Vet. Rec. 72: 25-27.

Maciel F. C. 2006. Manejo Sanitário de Caprinos e Ovinos. Natal: Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte S. A (EMPARN). 32 p.

Marcondes A. G. Micobacterioses de ovinos (*Ovis Áries*) do Estado de São Paulo, Brasil. Correlação entre teste imunoalérgico, cultivo e histopatológico. 2007. 93 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

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. 2005. Ocorrência da Tuberculose Caprina no Estado de Pernambuco. Arq. Inst. Biol. São Paulo. 72:1-64.

Mills A. E., Mitchell R. D., Lim E. K. 1997. *Corynebacterium pseudotuberculosis* is a cause of human necrotizing granulomatous lymphadenitis. Pathol. 29: 231-233.

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., Snel G.G.M., Bercht B.S. & Juffo G.D. 2007. Paratuberculose em um rebanho bovino leiteiro no estado de Pernambuco. Arq. Inst. Biológico, São Paulo. 74:73-79.

Mota R.A., Peixoto P.V., Yamasaki E.M., Medeiros E.S., Costa M.M., Peixoto R.M. & Brito M.F. 2010. Ocorrência de paratuberculose em búfalos (*Bubalus bubalis*) em Pernambuco. Pesq. Vet. Bras. 30:237-242.

Moura Costa M D. et al. 1973. Linfadenite caseosa dos caprinos no Estado da Bahia: distribuição geográfica da doença. B. IBB. 12:1-7.

- Motta P., Mota P.C., Pires P.S., Assis R.A., Salvarani F.M., Leite R.M.H., Dias L.D., Leite R.C., Lobato F.C.F., Guedes R.M.C. & Lage A.P. 2009. Paratuberculose em um rebanho Gir leiteiro no Estado da Paraíba Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 29:703-706.
- Müller G., Riet-Correa F., Schild A. L., Méndez M. D. C., Lemos R. A. A. 2003. Doenças de ruminantes e equinos. 3ª ed. Varela, São Paulo. 426 p.
- Oliveira D.M., Riet-Correa F., Galiza G.J.N., Assis A.C.O., Dantas A.F.M., Bandarra P.M. & Garino Jr F. 2010. Paratuberculose em ovinos e caprinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 30:67-72.
- Paraense W. L. 1983. *Lymnaea columella* in Northern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 78: 477-82.
- Peel M. M., Palmer G. G., Stacpoole A. M., Kerr T. G. 1997. Human lymphadenitis due to *Corynebacterium pseudotuberculosis*: report of tem cases from Australia and review. *Clin. Infect. Disease.* 24:185.191.
- Pekelder, J.J. 2000. Caseous lymphadenitis. In: MARTIN, W. B.; AITEKEN, I. D. *Diseases of Sheep.* 3. ed. Iowa: Blackwell Publishing, p. 270-274.
- Pignata W. A., et al. 2010. Tuberculose Caprina no Semiárido Brasileiro. *Arq. Inst. Biol.* 77:339-342.
- Poester F. P., Ramos E. T. 1994. Infecção experimental em caprinos com *Mycobacterium Paratuberculosis* de origem bovina. *Ciência Rural.* 24: 333-337.
- Pugh D. G. 2004. Clínica de Ovinos e Caprinos. Roca. São Paulo. 513p.
- Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W. & Constable P.T. 2007. *Veterinary Medicine.* 10th ed. Saunders Elsevier, Edinburgh, p.1017-1044.
- Riet-Correa F., Garcia M. Tuberculose. In: Riet-correa F., Schild A. L., Lemos R. A. A., Borges J. R. J. 2007. *Doenças de ruminantes e equinos.* 3ª ed. Pallotti, Santa Maria. 722p.

Riet-Correa F., Driemeier D. 2007. Paratuberculose In: Riet-Correa F., Schild A. L., Lemos R. A. A., Borges J. R. J. Doenças de Ruminantes e Equinos. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria 722p.

Ruas, J. L., Berne M. E. A. 2007. Parasitoses por Nematódeos Gastrintestinais em bovinos e ovinos. In: Riet-Correa F., Schild A. L., Lemos R. A. A., Borges J. R. J.. Doenças de ruminantes e equinos. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria. 722p.

Saldanha, S.V., Evêncio-Neto, J., Melo, L.E.H., Melo, M.T., Tenório, T.G.S., Fernandes, A.C.C. 2005. Caracterização das alterações buco-dentais de caprinos criados no Sertão e Zona da Mata do Estado de Pernambuco. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo.72:1-64.

Smith, P. B. 2003. Large animal internal medicine. 4 ed. St Louis: Mosby. 1784 p.

Silva N.M. 1968. Estudos sobre a paratuberculose. IV. Infecção experimental de ovinos com *Mycobacterium paratuberculosis* de origem bovina. Pesquisa. Agropecuária. Brasileira. 3:285-289.

Silva T. I. B., Neto H. L. S. V., Chaves R. A. H., Revorêdo R. G., Lins C. R. B., Souza A. C. M., Silva D. D., Fernandes A. C. C., Baptista Filho L. C. F., Melo L. E. H. 2010. Tuberculose caprina: mitos ou risco iminente à saúde pública no estado de Pernambuco? X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão. UFRPE.

Urquhart G. M., Armour J., Duncan J. L. 1998. Parasitologia veterinária. 2ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 273p.

Quadro 1. Resultados dos exames realizados em tecidos de ovinos e caprinos abatidos no matadouro municipal do Estado de Alagoas.

IDENTIFICAÇÃO	PROCEDÊNCIA	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	EXAME BACTERIOLÓGICO	DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO ETIOLÓGICO
06/10 Ovino, macho (1)	Maceió	Intestino: Nódulos firmes medindo aproximadamente 0,5cm e ao corte com conteúdo caseoso; Linfonodo mesentérico: nódulo de aproximadamente 1cm de diâmetro circunscrito, duro e calcificado; Pulmão: áreas amareladas, conteúdo purulento (abscesso).	Intestino: granuloma caseoso na submucosa, encapsulado com leve infiltrado mononuclear, macrófagos e células epitelióides; Linfonodos mesentéricos: congestão e foco de inflamação constituída de macrófagos e necrose de caseificação circundado por uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso nas áreas corticais e medulares; Pulmão: foco de necrose caseosa, com colônias bacterianas, numerosos eosinófilos e numerosos macrófagos preenchendo alvéolos e bronquíolos. Ainda se vê áreas de fibrose, focos de epitelização, raras células gigantes e pequenas áreas de enfisema. Ao redor de pequenas artérias, na periferia da lesão há pequenos focos de infiltrado mononuclear.	não cresceu	Nódulos Fibrocalcários Linfadenite Pneumonia
07/10 Ovino, macho (2)	Maceió	Pulmão: armado, pesado, com áreas elevadas (enfisema).	Pulmão: congestão, septos alveolares espessados e focos de enfisema.	não cresceu	Pneumonia
08/10 Ovino, macho (3)	Maceió	Linfonodo mesentérico: áreas endurecidas e calcificadas de coloração branco-amareladas.	Linfonodos mesentéricos: numerosos focos de necrose de caseificação com presença de células gigantes, numerosos macrófagos infiltrando as áreas paracorticais e os seios medulares. Nestes, muitos macrófagos tinham aspecto espumoso.	não cresceu	Linfadenite
09/10 Ovino, macho (4)	Maceió	Pulmão: aspecto esponjoso e área com abscesso de coloração esbranquiçada e presença de conteúdo purulento.	Pulmão: Inflamação intersticial com presença de eosinófilos e áreas calcificadas, congestão e colabamento de alvéolos.	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> <i>Staphylococcus</i> spp. e <i>Bacillus</i> spp	Pneumonia
10/10 Ovino, macho (5)	Maceió	Fígado: Pequena área granulomatosa circunscrita amarelada e encapsulada.	Fígado: áreas granulomatosas circunscritas com necrose no centro da lesão de coloração rósea homogênea com grande quantidade de células inflamatórias mononucleares, células gigantes e células epitelióides. Há Também inflamação entre os hepatócitos e no espaço porta e em alguns locais substituindo-os.	Cocobacilo gram + <i>Staphylococcus</i> spp e <i>Bacillus</i> spp	Hepatite granulomatosa

Quadro 1. Resultados dos exames realizados em tecidos de ovinos e caprinos abatidos no matadouro municipal do Estado de Alagoas.

IDENTIFICAÇÃO	PROCEDÊNCIA	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	EXAME BACTERIOLÓGICO	DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO ETIOLÓGICO
11/10 Ovino, Macho (6)	Maceió	Linfonodo mesentérico: coloração amarelada e presença de abscessos; Pulmão: áreas estriadas esbranquiçadas.	Linfonodos mesentéricos: numerosos focos de necrose de caseificação, circundado por fina cápsula de tecido conjuntivo e infiltrado inflamatório mononuclear difuso, rico em macrófagos; Pulmão: áreas de espessamento alveolar e de enfisema alveolar. Pequenos focos de infiltrado inflamatório mononuclear.	<i>Staphylococcus</i> spp. cocos gram - <i>Streptococcus</i> spp.	Linfadenite Pneumonia
12/10 Ovino, Macho Santa Inês (7)	Maceió, Penedo, Arapiraca, União dos Palmares	Linfonodo mesentérico: áreas circunscritas, amareladas e encapsulada; Cólon: pequenos granulomas de consistência firme e com secreção no centro.	Linfonodos mesentéricos: leve edema nos seios subcapsulares e medulares e inflamação mononuclear; Cólon: processo inflamatório piogranulomatoso, em cujo centro há necrose de caseificação e no entorno extenso infiltrado inflamatório misto, rico em eosinófilos, detritos celulares, e macrófagos em meio a tecido conjuntivo fibroso na muscular e mucosa.	Bastonetes Gram +	Linfadenite Nódulo Fibrocalcário
13/10 Ovino, macho Santa Inês (8)	Maceió, Arapiraca, União dos Palmares	Linfonodo mesentérico: alaranjado e com a região medular de coloração mais escura.	Linfonodo mesentérico: focos de infiltrados inflamatórios por polimorfonucleares, com raras células gigantes no entorno, discreta cápsula de tecido conjuntivo e denso infiltrado por macrófagos na periferia; em outras áreas se vê foco de necrose caseosa circundada por cápsula fibrosa e infiltrado por células mononucleares.	Cocos Gram + <i>Staphylococcus</i> SP.	Linfadenite
14/10 Ovino, macho, Santa Inês (9)	Maceió, Penedo, Arapiraca, União dos Palmares	Pulmão: áreas avermelhadas e consistência esponjosa	Pulmão: pequenas áreas de espessamento alveolar, hipertrofia do músculo liso dos alvéolos e leve infiltrado inflamatório constituído de macrófagos na região intersticial.	Não cresceu	Pneumonia

Quadro 1. Resultados dos exames realizados em tecidos de ovinos e caprinos abatidos no matadouro municipal do Estado de Alagoas.

IDENTIFICAÇÃO	PROCEDÊNCIA	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	EXAME BACTERIOLÓGICO	DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO ETIOLÓGICO
15/10 Ovino, fêmea Santa Inês (10)	Maceió, Penedo, Arapiraca, União dos Palmares	Ceco: presença de pequenos granulomas firmes medindo aproximadamente 0,5cm e ao corte com conteúdo caseoso.	Ceco: processo inflamatório piogranulomatoso na submucosa; no centro há necrose de caseificação rica em detritos celulares e na periferia células mono e polimorfonucleares, muitos eosinófilos e tecido conjuntivo fibroso ao redor.	Bastonetes Gram +	Nódulos Fibrocalcários
16/10 Ovino, fêmea Santa Inês (11)	Maceió, , Penedo, Arapiraca, União dos Palmares	Ceco: pequenos granulomas firmes medindo aproximadamente 0,5cm e ao corte com conteúdo caseoso; Fígado: foco granulomatoso e circunscrito com conteúdo amarelado e caseosa.	Ceco: granuloma parasitário, caracterizado por necrose caseosa, com presença de larva de helminto, denso infiltrado inflamatório rico em macrófagos e alguns eosinófilos, circundados por tecido conjuntivo; Fígado: fibrose e focos de inflamação constituída de macrófagos e necrose	Cocobacilos Gram – Bastonetes G+	Nódulos fibrocalcário focal Hepatite crônica
17-10 Caprino, fêmea, SRD (12)	Maceió, Penedo, Arapiraca, União dos Palmares	Cólon: Mucosa do intestino nódulo firme de 0,5cm de diâmetro. Na superfície de corte, o nódulo era preenchido por centro caseoso e calcificado, envolto por tecido conjuntivo fibroso.	Cólon: Áreas de necrose circunscritas grandes na mucosa e muscular com inflamação crônica.	Cocos Gram + <i>Staphylococcus</i> sp Bastonetes Gram +	Nódulos fibrocalcário focal
29-10 Ovino, macho (13)	Maceió	Fígado: mais claro, lobulação evidente.	Fígado: fibrose portal leve, hiperplasia dos ductos biliares, leve infiltrado por macrófagos e alguns polimorfonucleares e focos de necrose incipiente de hepatócitos além de leve vacuolização de hepatócitos em áreas isoladas; em outro corte se vê quase que completo desaparecimento de hepatócitos e substituição por tecido conjuntivo fibroso (“cirrose”), proliferação de ductos biliares, área de necrose e infiltrado por polimorfonucleares.	<i>Streptococcus</i> spp. Cocos Gram -	Colangiohepatite crônica
30-10 Ovino macho (14)	Maceió	Fígado: mais claro e com a lobulação evidente.	Fígado: pequenos focos de inflamação mononuclear no espaço porta, congestão e vacuolização leve.	Cocobacilos Gram - Bacilos Gram- (bastonetes)	Hepatite

Quadro 1. Resultados dos exames realizados em tecidos de ovinos e caprinos abatidos no matadouro municipal do Estado de Alagoas.

IDENTIFICAÇÃO	PROCEDÊNCIA	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	EXAME BACTERIOLÓGICO	DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO ETIOLÓGICO
31-10 Ovino, macho (15)	Maceió	Linfonodo mesentérico: nódulos com áreas calcificadas, amareladas e que rangiam ao corte.	Linfonodo mesentérico: focos de necrose caseosa circundados por infiltrado inflamatório mononuclear, com predominância de macrófagos, numerosos eosinófilos, células gigantes de Langhans e fibrose. Observou-se também alguns macrófagos carregados de pigmento amarelado e em outras áreas havia proliferação de células reticulares especialmente macrófagos, fibrose nos seios medulares e hiperplasia linfóide.	Cocos Gram - Cocobacilos Gram – <i>Bacillus</i> spp.	Linfadenite granulomatosa
33-10 Ovino, Macho (16)	Maceió	Fígado: com áreas circunscritas, brancas e de consistência friável e lobulação evidente.	Fígado: fibrose portal leve, hiperplasia dos ductos biliares, leve infiltrado por macrófagos e alguns polimorfonucleares (colangite crônica) e focos de necrose incipiente de hepatócitos; desaparecimento de hepatócitos e substituição por tecido conjuntivo fibroso (“ cirrose ”), proliferação de ductos biliares, áreas de necrose e infiltrado por polimorfonucleares. Há bilestase, dilatação de vasos linfáticos na área cirrótica e presença de parasitos no lúmen de alguns ductos biliares. Observou-se ainda foco de abscedação com alguns grânulos mineralizados e cápsula de tecido conjuntivo e leve denegeração vacuolar.	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> Cocos Gram -	Colangiohepatite crônica associada a linfadenite caseosa
34-10 Ovino, macho (17)	Maceió	Fígado: focos de coloração esbranquiçada (ou mais clara) e lobulação levemente evidente.	Fígado: fibrose portal leve, hiperplasia dos ductos biliares, leve infiltrado inflamatório constituído de macrófagos e alguns polimorfonucleares (colangite crônica), rica em eosinófilos e com focos de abscedação e necrose caseosa com numerosas células gigantes nas bordas dos focos de necrose. Observou-se ainda degeneração vacuolar difusa.	<i>Staphylococcus</i> spp <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	Colangiohepatite crônica (compatível com Fasciole).
35-10 Ovino, macho (18)	Maceió	Fígado: coloração mais clara e lobulação evidente.	Fígado: intenso infiltrado inflamatório constituído de eosinófilos nos espaços porta e discreta vacuolização difusa de hepatócitos.	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> . <i>Staphylococcus</i> spp	Hepatite

Quadro 1. Resultados dos exames realizados em tecidos de ovinos e caprinos abatidos no matadouro municipal do Estado de Alagoas.

IDENTIFICAÇÃO	PROCEDÊNCIA	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	EXAME BACTERIOLÓGICO	DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO ETIOLÓGICO
36-10 Ovino, macho (19)	Maceió	Fígado: coloração mais clara e lobulação evidente e presença de pequenos abscessos.	Fígado: discreta vacuolização difusa de hepatócitos; processo inflamatório piogranulomatoso, rico em eosinófilos, macrófagos e células gigantes; há sob a cápsula de Glisson, fibrina em organização, colônias bacterianas e infiltração mononuclear. Observou-se também áreas de necrose caseosa circundadas por tecido conjuntivo fibroso.	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	Hepatite crônica
37-10 Ovino, macho (20)	Maceió	Linfonodo mesentérico: áreas mais claras na região medular	Linfonodo mesentérico: hiperplasia linfóide	<i>Bacillus</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	Sugestivo de Linfadenite caseosa
38-10 Ovino, macho (21)	Maceió	Linfonodo mesentérico: nódulo circunscrito calcificado	Linfonodo mesentérico: extensas áreas de necrose de caseificação, com áreas de mineralização e focos de supuração; colônias bacterianas nas áreas de necrose e em meio aos focos de supuração.	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> <i>Streptococcus</i> spp	Linfadenite caseosa
39-10 Ovino, macho(22)	Maceió	Linfonodo superficial (mediastínico): área com o centro amarelado cercado por uma cápsula mais firme	Linfonodo superficial: infiltrado inflamatório mononuclear e hiperplasia linfóide.	<i>Streptococcus</i> spp <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	Linfadenite caseosa
40/10 Ovino, Fêmea SRD (23)	Maceió	Pulmão: áreas de coloração mais clara, consistência firme	Pulmão: áreas de enfisema, congestão, dilatação de brônquios e bronquíolos.	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> <i>Staphylococcus</i> spp.	Sugestivo de Linfadenite caseosa
55/10 Ovino, Fêmea (24)	Caruaru-PE	Intestino delgado: mucosa do intestino delgado com nódulo firme de 0,5cm de diâmetro. Na superfície de corte, o nódulo era preenchido por centro caseoso e calcificado.	Intestino delgado: mucosa com infiltração por eosinófilos e células mononucleares, principalmente linfócitos; notam-se pequenos focos de mineralização desde o ápice até a base da mucosa em um foco. Na subserosa há um foco de necrose caseosa com restos de larvas de parasito, circundada por tecido conjuntivo.	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> Bacilos	Nódulos Fibrocalcários associada Linfadenite caseosa

Quadro 1. Resultados dos exames realizados em tecidos de ovinos e caprinos abatidos no matadouro municipal do Estado de Alagoas.

IDENTIFICAÇÃO	PROCEDÊNCIA	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	EXAME BACTERIOLÓGICO	DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO ETIOLÓGICO
56/10 Caprino, Macho (25)	Caruaru-PE	Intestino grosso – mucosa do intestino delgado com nódulo firme de 0,5cm de diâmetro. Na superfície de corte, o nódulo era preenchido por centro caseoso e calcificado, envolto por tecido conjuntivo fibroso.	Intestino grosso - focos de necrose caseosa e piogranulomas que afetam as camadas submucosa até a subserosa; em alguns já se vê mineralização incipiente.	Cocobacilos Gram -	Nódulos Fibrocalcários
57/10 Caprino, Macho (26)	Caruaru-PE	Intestino grosso – mucosa do intestino delgado com nódulo firme de 0,5cm de diâmetro. Na superfície de corte, o nódulo era preenchido por centro caseoso e calcificado, envolto por tecido conjuntivo.	Intestino grosso – nódulos de caseificação com extensas áreas de mineralização, circundados por infiltração inflamatória mononuclear e tecido conjuntivo.	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> Bacilos Gram +	Nódulos Fibrocalcários) associado a Linfadenite caseosa
58/10 Ovino, Fêmea (27)	Caruaru-PE	Intestino delgado – mucosa do intestino delgado com nódulo firme de 0,5cm de diâmetro. Na superfície de corte, o nódulo era preenchido por centro caseoso e calcificado, envolto por tecido conjuntivo	Intestino delgado: nódulos subserosos com presença de necrose caseosa, focos de mineralização, numerosas células gigantes e cápsula de tecido conjuntivo	Cocobacilos Gram -	Nódulos Fibrocalcários
59/10 Ovino, Fêmea (28)	Caruaru-PE	Fígado: coloração mais clara e com lobulação evidente	Fígado: discreta vacuolização difusa de hepatócitos.	Estreptococos Gram +	Degeneração hepática
60/10 Ovino, Fêmea (29)	Caruaru-PE	Pulmão: esbranquiçado	Pulmão: congestão, edema e enfisema discretos; Infiltrado inflamatório eosinofílico peribronquiolar. Observou-se também uma área cística, circundada por uma cápsula e células inflamatórias mononucleares	Tétrades Gram -	Pneumonia e Cisto
61/10 Ovino, Fêmea (30)	Caruaru-PE	Intestino delgado: nódulo firme de 0,5cm de diâmetro. Na superfície de corte, o nódulo era preenchido por centro caseoso e calcificado, envolto por tecido conjuntivo fibroso.	Intestino delgado: intenso infiltrado inflamatório mononuclear desde a submucosa até a subserosa, com numerosos focos de necrose caseosa circundados por macrófagos, células gigantes e tecido conjuntivo fibroso; em algumas dessas áreas necróticas há restos de helmintos. Vêem-se ainda focos de mineralização e hiperplasia de placas de Peyer	Micrococos Gram +	Nódulos Fibrocalcários

Quadro 1. Resultados dos exames realizados em tecidos de ovinos e caprinos abatidos no matadouro municipal do Estado de Alagoas.

IDENTIFICAÇÃO	PROCEDÊNCIA	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	EXAME BACTERIOLÓGICO	DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO ETIOLÓGICO
63/10 Ovino, macho (31)	Caruaru-PE	Fígado: pálido e com a lobulação evidente	Fígado: leve vacuolização difusa de hepatócitos, congestão leve e inflamação mononuclear periportal	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> Bacilos	Degeneração vacuolar Hepatite Linfadenite caseosa
01/11 Ovino, macho (32)	Caruaru-PE e Viçosa-A	Pulmão: armado e mosqueado	Pulmão: presença de sangue livre no lúmen dos alvéolos	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	Aspiração de sangue (achado incidental de abate).
02/11 Ovino, macho (33)	Caruaru-PE e Viçosa-AL	Intestino Delgado: vários nódulos firmes de 0,5cm de diâmetro. Na superfície de corte, o nódulo era preenchido por centro caseoso e calcificado, envolto por tecido conjuntivo fibroso	Intestino Delgado: Presença de granulomas localizados na submucosa, com o centro necrótico circundado por células inflamatórias mononucleares, fibroblastos e uma cápsula fibrosa.	Estafilococos	Nódulos Fibrocalcários
03/11 Ovino, macho (34)	Caruaru-PE e Viçosa-AL	Pulmão: áreas Escurecidas	Pulmão: congestão.	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> (Bacilos Gram +); Estafilococos	Sugestivo de Linfadenite caseosa
04/11 Ovino, fêmea (35)	Caruaru-PE e Viçosa-AL	Intestino delgado: presença de Cistos e nódulos firmes calcificados com o centro caseoso medindo aproximadamente 3 cm de diâmetro.	Intestino delgado: múltiplos focos de necrose caseosa com mineralização incipiente, reação inflamatória predominantemente mononuclear e fibrose no entorno, afetando desde a submucosa até a subserosa. Há também infiltrado eosinofílico.	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> Estafilococos e Bacilos	Nódulos Fibrocalcários associado a Linfadenite caseosa
05/11 Ovino, fêmea (36)	Caruaru-PE e Viçosa-AL	Intestino grosso: nódulo firme de 0,5cm de diâmetro. Na superfície de corte, o nódulo era preenchido por centro caseoso e calcificado, envolto por tecido conjuntivo fibroso.	Intestino grosso: múltiplos focos de necrose caseosa e evidente mineralização; há reação inflamatória predominantemente mononuclear e fibrose no entorno. Os granulomas abrangem as camadas submucosa e muscular. Há grande quantidade de eosinófilos	Não cresceu	Nódulos Fibrocalcários
06-11 Ovino, macho (37)	Caruaru-PE e Viçosa-AL	Intestino delgado: nódulos firmes de 3 cm de diâmetro de coloração branca e amarelada.	Intestino delgado: numerosos focos de necrose caseosa, mineralização, foco de supuração rico em eosinófilos, restos de helmintos, numerosas células gigantes, macrófagos e fibrose	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	Nódulos Fibrocalcários associado a Linfadenite caseosa

.Quadro 1. Resultados dos exames realizados em tecidos de ovinos e caprinos abatidos no matadouro municipal do Estado de Alagoas.

IDENTIFICAÇÃO	PROCEDÊNCIA	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	EXAME BACTERIOLÓGICO	DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO ETIOLÓGICO
07-11 Ovino, macho (38)	Caruaru-PE e Viçosa-AL	Fígado: áreas esbranquiçadas e lobulação levemente evidente	Fígado: Leve degeneração vacuolar citoplasmática de hepatócitos, foco de necrose caseosa, células gigantes e cápsula de tecido conjuntivo	Não cresceu	Abscesso encapsulado antigo
08-11 Ovino, macho (39)	Caruaru-PE e Viçosa-AL	Linfonodo: região medular de coloração mais escura	Linfonodo: Hiperplasia linfóide, vacuolização de células em algumas áreas, Congestão e uma área de necrose	Não cresceu	Congestão e Necrose
09-11 Ovino, Macho (40)	Caruaru-PE e Viçosa-AL	Fígado: esbranquiçado com nódulos amarelados e esbranquiçados de 2 cm de diâmetro, tangente ao corte. Intestino delgado: nódulo de coloração amarelada com consistência firme de 0,5 cm de diâmetro.	Fígado: granulomas com necrose e calcificação no centro circundado por células inflamatórias e uma capsula fibrosa além de congestão e focos de inflamação mononuclear periportal. Intestino delgado: ulceração focal e infiltração inflamatória mononuclear com presença de eosinófilos; desde a muscular até a subserosa vêem-se numerosos focos de necrose caseosa com reação mononuclear, células gigantes e focos de mineralização incipiente; vêem-se ainda restos de larvas de helmintos.	Fígado: Não cresceu Intestino delgado: <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> Estafilococos	Hepatite granulomatosa Nódulos Fibrocalcários associado a linfadenite caseosa
10-11 Ovino, macho (41)	Caruaru-PE e Viçosa-AL	Fígado: áreas de coloração amarelada e outras mais claras e com a lobulação evidente.	Fígado: Degeneração vacuolar e Presença de macrófagos espumosos na região capsular	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> (Bacilos Gram +); Estafilococos	Degeneração e hepatite

Quadro 1. Resultados dos exames realizados em tecidos de ovinos e caprinos abatidos no matadouro municipal do Estado de Alagoas.

IDENTIFICAÇÃO	PROCEDÊNCIA	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	EXAME BACTERIOLÓGICO	DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO ETIOLÓGICO
11-11 Ovino, fêmea (42)	Caruaru-PE e Viçosa-AL	Intestino delgado: nódulo firme de 0,5cm de diâmetro. Na superfície de corte, o nódulo era preenchido por centro caseoso e calcificado, envolto por tecido conjuntivo fibroso. Fígado: áreas esbranquiçadas e outras mais amareladas ao corte e lobulação levemente evidente. Pulmão: Áreas circunscritas nodulares com conteúdo caseoso	Intestino delgado: massas necróticas com focos de mineralização, com células gigantes e cápsula de tecido conjuntivo, que se estende desde a muscular até a subserosa Fígado: discreta vacuolização de hepatócitos, Congestão e focos de inflamação periportal. Pulmão: focos de necrose caseosa, circundados por fina cápsula fibrosa e raras células gigantes	Intestino delgado: Estafilococos; Micrococos Gram + Fígado: <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> Estreptococos; Pulmão: <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> (Bacilos); Micrococos Gram +	Nódulos Fibrocalcários Hepatite Pneumonia
12-11 Ovino, Fêmea (43)	Caruaru-PE e Viçosa-AL	Linfonodo: coloração mais escura na região medular e levemente aumentado de tamanho	Linfonodo: inflamação mononuclear	Estafilococos	Linfadenite

Quadro 2. Principais lesões macroscópicas observadas em tecidos obtidos de ovinos e caprinos abatidos em matadouro municipal do Estado de Alagoas.

Lesões macroscópicas	Animais estudados		Total
	Ovinos	Caprinos	
Intestinos com nódulos fibrocalcários	15	3	18
Linfonodos superficiais ou mesentéricos com granulomas	4	---	4
Linfonodos mesentéricos com abscessos	1	---	1
Pulmão com áreas amareladas e conteúdo purulento (abscesso).	2	---	2
Pulmão com áreas granulomatosas	2	---	2
Fígado com áreas granulomatosas circunscritas com conteúdo amarelado e caseoso, com ou sem fibrose	3	---	3

Quadro 3. Principais características histopatológicas observadas em tecidos obtidos de animais abatidos em no matadouro municipal do Estado de Alagoas.

Lesões Histopatológicas	Animais Estudados		Total
	Ovinos	Caprinos	
Intestinos: granulomas, com o centro necrosado, circundado por uma cápsula fibrosa, células inflamatórias mononucleares e fibroblastos	10	2	12
Intestinos: granulomas que ao corte histológico havia restos de larva de helminto em meio à necrose	5	1	6
Linfonodos: áreas de necrose caseosa, infiltrado inflamatório mononuclear com presença de células gigantes, calcificação e fibrose	4	0	4
Pulmões: focos de necrose caseosa, circundados por tecido conjuntivo fibroso e presença de células gigantes	4	0	4
Fígado: formação de granulomas compostos por áreas circunscritas, conteúdo amarelado e caseoso, encapsulado com ou sem fibrose	3	0	3
Fígado: hiperplasia e proliferação de ductos biliares	3	0	3
Fígado: células polimorfonucleares, proliferação de tecido conjuntivo fibroso, bilestase e presença de parasitos no lúmen de alguns ductos biliares	1	0	1

Quadro 4. Diagnóstico baseado em lesões macroscópicas, histopatológicas e nos resultados dos exames bacteriológicos obtidos de ovinos e caprinos abatidos em matadouro municipal do Estado de Alagoas.

Diagnósticos	Identificação dos Ovinos	Identificação dos Caprinos
Necropsia e histopatologia sugestiva de linfadenite caseosa, Cultivo para <i>Corynebacterium</i> spp, resultados positivos para ZN, IHC negativa para <i>Mycobacterium</i> spp.	9/10; 33/10; 34/10; 35/10; 36/10; 37/10; 38/10; 39/10; 40/10; 55/10; 63/10; 1/11; 3/11; 4/11; 6/11; 9/11; 10/11; 11/11 = (18 ovinos)	---
Necropsia e histopatologia sugestiva de oesofagostomose	06/10; 11/10; 12/10; 13/10; 15/10; 16/10; 55/10; 58/10; 61/10; 02/11; 04/11; 05/11; 06/11; 09/11; 11/11; 31/10 = (16 ovinos)	17/10; 56/10; 57/10 = (3 caprinos)
Necropsia e histopatologia sugestiva de fasciolose	29/10; 33/10; 34/10; 35/10 = (4 ovinos)	---
Pneumonia intersticial	7/10 = (1 ovino)	---
Hepatite granulomatosa focal	10/10 = (1 ovino)	---
Abscessos hepáticos encapsulados	7/11 = (1 ovino)	---
Exames macro e microscópicos com resultados inconclusivos	8/10; 14/10; 30/10; 59/10; 60/10; 12/11 = (6 ovinos)	---

LEGENDA DAS FIGURAS



Figura 1A. Intestino Delgado. Ovino F6-11. Presença de nódulos fibrocalcários.



Figura 1B. Focos de necrose caseosa circundados por reação granulomatosa na submucosa do intestino grosso do Ovino F6-11. HE, Obj.4x.

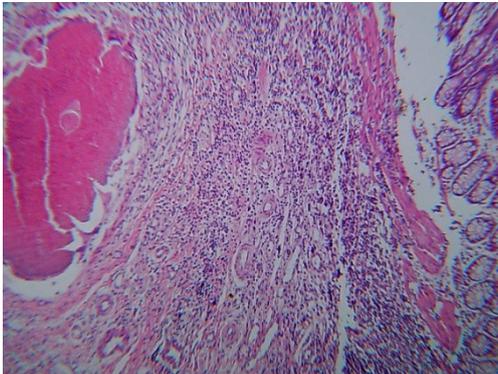


Figura 1C. Intenso infiltrado inflamatório mononuclear envolvendo as camadas submucosa e muscular, com foco de necrose caseosa; no centro da lesão necrótica observa-se restos de helmintos. Ovino F61-10. HE, Obj.16x.

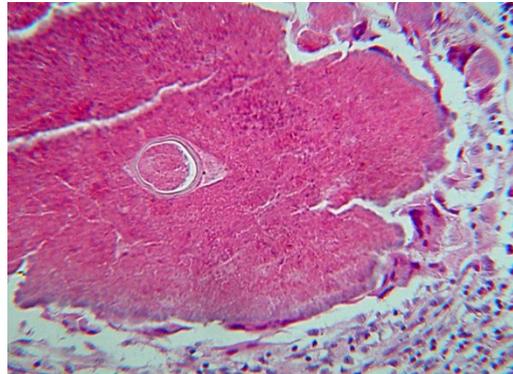


Figura 1D. Mesma lesão da figura 1C, vista em maior aumento. Ovino F61-10. HE, Obj.16x.



Figura 2A. Fígado do Ovino 33-10. Pequenos abscessos na superfície capsular.

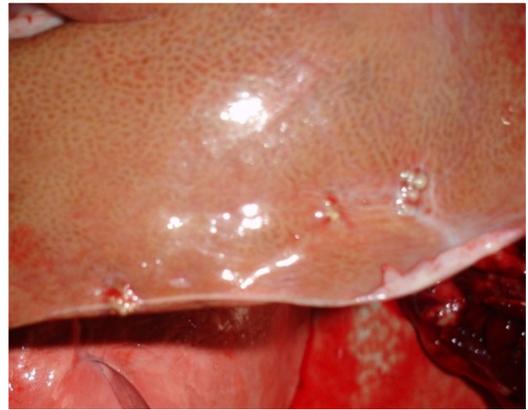


Figura 2B. Fígado do Ovino 36-10. Lobulação evidente e com pequenos abscessos.

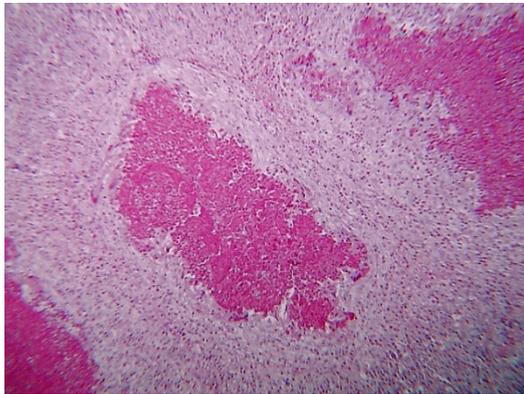


Figura 2C. Fígado de ovino com áreas de necrose caseosa circundadas por tecido conjuntivo fibroso. Ov 36-10. HE, Obj. 4x.

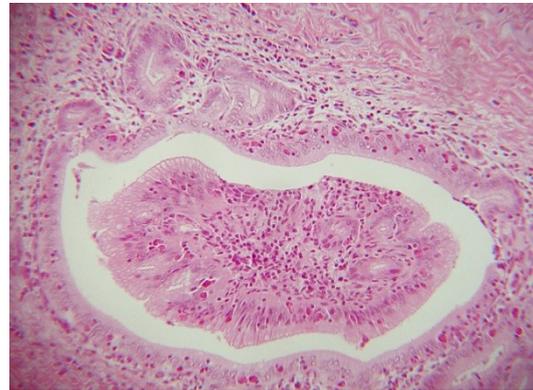


Figura 2D. Ectasia de ducto biliar e presença de parasito compatível com *Fasciola hepatica* em seu lúmen. Ov 33-10. HE, Obj. 16x.

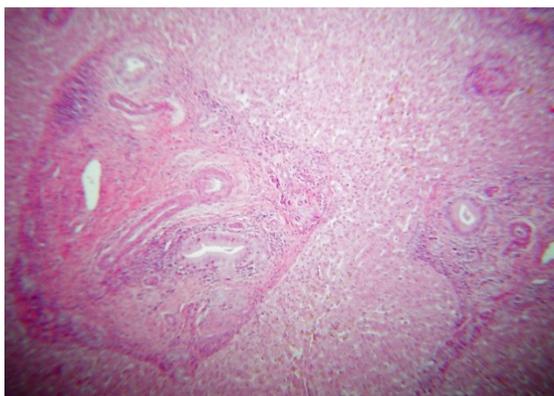


Figura 2E. Acentuada fibrose periportal, proliferação de vias biliares e reação inflamatória rica em eosinófilos (detalhe visto na Figura 2F) compatível com lesão causada por *Fasciola hepatica*. Ov 33-10. HE, Obj. 4x.

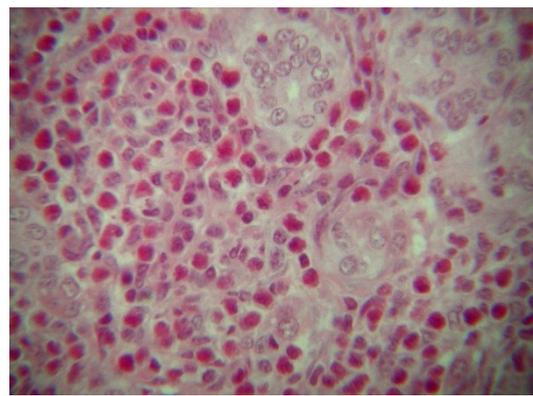


Figura 2F. Proliferação de vias biliares e reação inflamatória rica em eosinófilos (vista aproximada da Figura 2E) compatível com lesão causada por *Fasciola hepatica*. Ov 33-10. HE, Obj. 4x.

ARTIGO 2

**IDENTIFICAÇÃO DE OVINOS REAGENTES AO TESTE TUBERCULÍNICO NA MESORREGIÃO
DO LESTE ALAGOANO**

(Formatado para ser encaminhado para o periódico Pesquisa Veterinária Brasileira)

IDENTIFICAÇÃO DE OVINOS REAGENTES AO TESTE TUBERCULÍNICO NA MESORREGIÃO DO LESTE ALAGOANO¹

Flávia Figueiraujo Jabour², Vivina Soares Ferreira³, Raissa Raposo de Menezes³, Thiago de Melo Pedroza³, José Pedro Vidal de Negreiros Piatti⁴, Francisco Feliciano da Silva Júnior², Rinaldo Aparecido Mota⁵ e Andrea Alice da Fonseca Oliveira⁵

ABSTRACT.- Jabour F.F., Ferreira V.S., Pedroza T.M., Piatti J.V.N., Feliciano Júnior F.F., Mota R.A. & Oliveira A.A.F. 2013. [**Identification of sheep reagents tuberculin skin test mesoregion east alagoano**] *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Laboratório de Patologia Veterinária, Clínica-Escola de Medicina Veterinária, Centro Universitário Cesmac, Rua: Divaldo Suruagy, s/n, Quadra 4, Lote 4, Praia do Francês, Marechal Deodoro, AL.57.160.000, Brasil. E-mail: flaviajabour@yahoo.com.br

The objective was to perform the tuberculin skin test in 275 sheep and 45 goats coming from four herds in three cities of Eastern Mesoregion of Alagoas state. We also applied a questionnaire to analyze the epidemiological profile of the properties studied. All goats were negative to the tuberculin skin test and two sheep (0.72%) were positive for two different properties (50%). Join the occurrence of tuberculosis in sheep in the state of Alagoas. Despite the lower frequency of cases there were a high number of outbreaks. This result indicates that one should intensify their efforts to control tuberculosis in these regions studied to prevent the spread of mycobacteria to other flocks of sheep and goats and similar epidemiological studies should be conducted in other regions of the state of Alagoas to investigate the occurrence of disease and your impact in sheep and goat herds.

INDEX TERMS: Tuberculosis, diagnosis, sheep, Alagoas.

RESUMO.- Objetivou-se neste estudo realizar o diagnóstico da tuberculose em caprinos e ovinos em três municípios da Mesorregião do Leste Alagoano. Foram tuberculinizados 275 ovinos e 45 caprinos procedentes de quatro rebanhos. Também foram aplicados questionários para estudar o perfil epidemiológico das propriedades estudadas. Todos os caprinos foram negativos ao teste tuberculínico e dois ovinos (0,72%) foram positivos, registrando-se 50% de focos da doença. Registra-se a ocorrência da tuberculose em ovinos no estado de Alagoas. Apesar da baixa frequência de casos positivos observou-se um elevado número de focos da doença. Este resultado indica que medidas de controle devem ser intensificadas para evitar a disseminação de micobactérias a outros rebanhos de ovinos e caprinos e estudos epidemiológicos semelhantes devem ser realizados em outras regiões do estado de Alagoas para investigar a ocorrência da doença e seu impacto na criação de caprinos e ovinos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Tuberculose, diagnóstico, ovinos, Alagoas

INTRODUÇÃO

Dentre as zoonoses que acometem ruminantes domésticos, destaca-se a tuberculose que é uma enfermidade contagiosa de evolução crônica que determina um quadro de doença granulomatosa grave e acarreta acentuadas perdas econômicas devido a diminuição da produtividade dos rebanhos afetados. Nos ovinos e caprinos, *M. bovis* são as espécies mais prevalentes e nos caprinos também já foram isolados *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium tuberculosis* (Morris et al. 1994, Rebhun 2000), *M. caprae* (Aranaz et al. 2003, Pate et al. 2006, Cvetnic et al. 2007) e *M. pinnipedii* (Cousins et al. 2003).

Os programas de sanidade caprina e ovina ainda não atribuem à tuberculose importância sanitária para os rebanhos de pequenos ruminantes no Brasil (Silva et al. 2010).

Em caprinos, há relatos de tuberculose em algumas regiões do país. Tuberculinizações nesta espécie foram realizados por Silva et al. (2006) em São Paulo com o objetivo de estabelecer um padrão de interpretação do teste para diagnóstico da tuberculose caprina e posteriormente por Silva et al. (2010) e Pignata et al. (2010) na Paraíba.

No Estado de São Paulo *M. bovis* foi isolado de um caprino (Benesi et al. 2008). Em Minas Gerais, Pinheiro et al. (2007) relataram um surto de tuberculose em caprinos leiteiros após abate de animais reagentes à prova da tuberculina e isolamento de *M. bovis*. Em Pernambuco, cabras reagiram positivamente ao teste de tuberculina e à necropsia foram observadas lesões associadas ao *M. bovis* (Saldanha et al. 2005); Também nesse mesmo Estado Melo et al. (2012), tuberculinizaram 442 cabras leiteiras e 15 animais (3,4%) foram positivos.

Casos de tuberculose em ovinos também foram relatados por Higinio (2010) e Marcondes et al. (2007) na Paraíba onde foram tuberculinizados 57 ovinos e destes, 11 apresentaram lesões sugestivas de tuberculose e na PCR detectou-se um animal positivo para micobactéria pertencente ao complexo *M. tuberculosis*.

A ausência de dados sobre a ocorrência da tuberculose no Estado de Alagoas justifica a realização deste estudo a fim de determinar a ocorrência da tuberculose. Com isso, objetivou-se realizar o teste tuberculínico nessas espécies em três municípios da mesorregião do leste alagoano.

MATERIAL E MÉTODO

Animais e Tuberculinização

Neste estudo foram utilizados 275 ovinos de diferentes raças e idades procedentes de três rebanhos localizados em três municípios da Mesorregião do Leste Alagoano (Marechal Deodoro, Viçosa e União dos Palmares) e 45 caprinos procedentes de Marechal Deodoro (Figura 1). Foi utilizada amostragem não probabilística por conveniência.

Os animais foram submetidos ao teste cervical comparativo (TCC) empregando-se tubérculo-proteínas de *M. bovis* AN₅ (PPD bovino)* e *M. avium* D₄ (PPD aviário)* tomando-se como referência os procedimentos do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose – PNCEBT (Brasil 2006) e do ensaio experimental padronizado experimentalmente para ovinos (Cyrillo et al. 2007) e caprinos (Silva et al. 2006).

O aumento na espessura da pele foi aferido com auxílio de um cutímetro** de acordo com os procedimentos preconizados pelo regulamento do PNCEBT e a leitura do teste tuberculínico foi realizada com 72 horas após aplicação da tuberculina, seguindo normas adotadas para bovinos (Brasil 2006).

Para ovinos, o teste foi considerado negativo quando a reação do aumento da espessura da pele na tuberculina bovina foi menor que o ocorrido na tuberculina aviária ou maior em até 0,90 mm; inconclusiva, quando a bovina foi maior que a aviária com aumentos entre 1 e 1,90 mm e positiva quando a bovina foi superior à aviária em pelo menos 2 mm (Cyrillo et al. 2007).

Para caprinos, a reação foi considerada negativa quando a variação decorrente da reação ao PPD bovino foi menor que o aviário ou maior em até 1,8 mm ($\leq 1,8$); inconclusiva quando a reação ao PPD bovino foi maior que o aviário estando entre 1,9 e 2,4 mm; e positiva quando a reação ao PPD bovino foi maior ou igual ao aviário em 2,5 mm ($\geq 2,5$) (Silva et al. 2006)

*Antígenos produzidos pelo Tecpar e adquiridos juntos ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

**Hauptner®

Análise do perfil epidemiológico

Para análise do perfil epidemiológico dos rebanhos foi aplicado um questionário investigativo modificado (Fernandes et al. 2009) aos proprietários, quando da execução do teste tuberculínico que continham informações sobre o manejo higiênico-sanitário.

RESULTADOS

Dos 275 ovinos tuberculinizados, dois (0,72%) foram positivos, sendo um animal em uma propriedade localizada no município de Marechal Deodoro e outro em União dos Palmares, representando 50% das propriedades estudadas com dois animais infectados (Quadro 1). Em relação aos caprinos, todos foram negativos ao teste. No ovino 1, a reação final no TCC foi de 2,42mm e no ovino 2 a reação foi de 3,32mm (Quadro 2).

No exame clínico dos animais tuberculinizados, as alterações clínicas observadas foram mastite (6,66%), linfonodos aumentados de tamanho (4,44%) e caquexia (1,33%). É importante salientar que nos animais positivos, não foi possível a realização da necropsia, devido os proprietários não terem autorizado tal procedimento.

Todas as propriedades estudadas possuíam sistema de criação semi-intensivo, a aquisição dos animais era feita em feiras livres e apenas uma não tinha assistência veterinária. Apenas uma criação era consorciada com bovinos e somente esta última espécie era tuberculinizada.

Em relação ao manejo sanitário, as quatro propriedades realizavam limpeza e higienização das instalações e apenas uma realizava quarentena e isolamento dos animais doentes.

DISCUSSÃO

Este estudo é pioneiro no que se refere ao diagnóstico da tuberculose em caprinos e ovinos no estado de Alagoas. Apesar da frequência de animais positivos ser de apenas 0,72%, o número de focos da enfermidade foi elevado (50%), demonstrando que o *Mycobacterium* sp. está disseminado nos rebanhos ovinos na região do Leste Alagoano. Os resultados obtidos neste estudo comprovam a ocorrência da tuberculose ovina em Alagoas, sendo necessária a implantação de medidas sanitárias para o seu controle e erradicação. A baixa frequência de casos deve servir de alerta para tomada de decisões e não justificar uma aparente situação de

controle, tendo em vista que outros focos já foram identificados em diferentes estados (Benesi et al. 2008, Bombonato et al. 2010, Silva et al. 2012), inclusive em regiões muito próximas ao estado de Alagoas onde é frequente a comercialização de animais.

Em outros estudos realizados no país também foram registradas baixas frequências de animais positivos. Marcondes et al. (2007), em Pindamonhangaba, SP tuberculinizaram 57 ovinos e todos foram negativos. Pignata et al. (2009) examinaram 1.866 caprinos procedentes de 84 propriedades na Microrregião de Monteiro, Paraíba com o alérgoteste padronizado para caprinos e encontraram 9/1866 (0,47%) animais positivos. Bombonato et al. (2010) realizaram tuberculinização em 233 caprinos de sete rebanhos na Mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG e somente três foram positivos (1,29%). Silva et al. (2010), tuberculinizaram 231 caprinos no Estado de Pernambuco e encontraram 5,2% de reações positivas.

De acordo com Bombonato et al. (2010), as diferenças nas prevalências observadas em diferentes regiões podem ser explicadas pelo tipo de amostra utilizada, a situação particular de cada propriedade examinada e a existência de alguns fatores relacionados à epidemiologia da doença, como os reservatórios domésticos, fatores ambientais e tipo de exploração.

Outros fatores podem explicar a presença de animais positivos. Em uma das propriedades onde foi verificado um animal positivo havia relatos de bovinos positivos no teste tuberculínico, necropsia, exame histopatológico e microbiológico com isolamento de *Mycobacterium bovis* (Cruz et al. 2008), bem como de um animal silvestre com achados clínico-patológicos sugestivos de tuberculose (Cruz et al. 2009). Melo et al. (2005) relataram que os bovinos doentes são fontes naturais e potenciais disseminadores de *M. bovis* e podem expor continuamente os animais sadios e as pessoas que lidam com eles ao risco de infecção. É importante ressaltar também que os animais silvestres são importantes reservatórios para o *Mycobacterium* sp. e que medidas preventivas devem ser adotadas para evitar o contato desses animais com os pequenos ruminantes.

Outra informação epidemiológica importante foi que todas as propriedades estudadas adquiriam animais de reposição em feiras livres; nesse caso geralmente não se conhece a procedência dos animais e aliado à falta de quarentena e realização de exames de diagnóstico da tuberculose pode contribuir para a disseminação da bactéria.

Neste estudo, a ausência de caprinos positivos pode ser em parte explicada pelo não fornecimento de leite de vacas tuberculosas a caprinos jovens. De acordo com Melo et al. (2012) por muito tempo acreditou-se que a espécie caprina era naturalmente resistente à infecção pelo *M. bovis* (Gutiérrez et al. 1998). Todavia tal hipótese foi questionada após o

registro da doença em caprinos em alguns países (Milne 1955, Reynoso et al. 1999). Sua gênese encontra-se estreitamente relacionada à proximidade com rebanhos bovinos infectados (Reynoso et al. 1999, Pugh 2004) e à prática disseminada entre caprinocultores de realizar o aleitamento de cabritos com leite de vacas para prevenir a artrite encefalite caprina (Melo et al. 2005). Ainda, de acordo com Cousins et al. (2003), a ausência de bovinos consorciados com pequenos ruminantes é um fator importante que limita o número de casos da doença. Além disso, tanto em caprinos como em ovinos, a linfadenite caseosa pode interferir no resultado da tuberculinização, causando reações falso-negativas.

As alterações clínicas observadas nos animais deste estudo foram: mastite, aumento de tamanho dos linfonodos e caquexia, achados estes que podem ser encontrados em animais com tuberculose e linfadenite caseosa que possuem características clínico-patológicas semelhantes e por isso devem ser diferenciadas (Lofstedt 2002). Melo et al. (2012) relataram que cabras com tuberculose apresentaram emaciação, anemia, hipertrofia de linfonodos e secreção nasal bilateral. Em 71% dos caprinos identificou-se uma síndrome respiratória caracterizada por respiração abdominal, tosse, áreas de silêncio pulmonar alternadas com crepitações e sibilos, além de abscessos localizados no vestíbulo bucal. A evolução clínica ocorreu de forma gradual, resultando na morte de três caprinos em decorrência de colapso cardiorrespiratório ou eutanásia devido ao avançado estado de caquexia de alguns animais. Na necropsia, os achados macroscópicos foram caracterizados principalmente por lesões pulmonares (71%, 5/7), focais (29%, 2/7) ou difusas (43%, 3/7). Alterações granulomatosas hepáticas foram também observadas em 29% (2/7) das cabras necropsiadas.

Nas propriedades estudadas, apenas os bovinos eram tuberculinizados considerando-se que esta prática ainda não está regulamentada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para pequenos ruminantes. No entanto, alguns trabalhos foram realizados no Brasil com o objetivo de padronizar o uso da tuberculina para estas espécies (Silva et al. 2006, Cyrillo et al. 2010).

Thorel (1980), Liébana et al. (1998) e Seva et al. (2002) recomendaram a inclusão dos pequenos ruminantes nos programas de erradicação da tuberculose. Silva (2006) cita ainda que deve ser utilizada a tuberculinização intradérmica em pequenos ruminantes como parte das exigências legais para a garantia de qualidade sanitária do leite.

CONCLUSÃO

Registra-se a ocorrência da tuberculose em ovinos no estado de Alagoas. A baixa frequência de casos e o elevado número de focos indica a necessidade de intensificar medidas de controle da doença nesta região para evitar a disseminação da bactéria da tuberculose para outros rebanhos de ovinos e caprinos. Outros estudos epidemiológicos devem ser realizados em outras regiões do estado de Alagoas para uma maior compreensão da dinâmica da doença nesta região.

REFERÊNCIAS

- Aranaz A., Cousins D., Mateos A. & Domínguez L. 2003. Elevation of *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* Aranaz et al. 1999 to species rank as *Mycobacterium caprae* comb. nov., sp. nov. [Int. J. Syst. Evol. Microbiol.](#) 53:1785-1789.
- 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*). *Arqs Inst. Biologico.* 75: 217-220.
- Bombonato N.G. 2010. Aspectos epidemiológicos da tuberculose caprina na mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG. *Arqs Inst. Biologico.* 77:389-384.
- Brasil. 2006. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT). Vera Cecilia Ferreira de Figueiredo, José Ricardo Lôbo, Vitor Salvador Picão Gonçalves. - Brasília: MAPA/SDA/DSA.188 p.
- Cousins D.V., Bastilda R., Cataldi A., Quse V., Redrobe S., Dow S., Duignan P., Murray A., Dupont C., Ahmed N., Collins D.M., Butler W.R., Dawson D., Rodríguez D., Loureiro J., Romano M.I., Alito A., Zumarraga M. & Bernadelli A. 2003. Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp. nov. *Int J Syst Evol Microb.* 53:1305-1314.

Cruz N.L., Valença S.R.F.A., Maiorino C.F., Tabosa H. & Jabour F.F. 2008. Ocorrência de tuberculose bovina no estado de Alagoas e sua importância epidemiológica. Anais III Semana Acadêmica FCBS-Cesmac, Maceió, AL, p.10. (Resumo).

Cruz N.L., Lima D.L., Nogueira A.C.J., Albuquerque I.M.B. & Jabour F.F. 2009. Diagnóstico de Tuberculose em Cateto (*Tayassu tajacu*) – Relato de Caso. Anais II SIMAS Simpósio Anual de Animais Silvestres, Lauro de Freitas, BA. (Resumo).

Cvetnic Z et al. 2007. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.11: 652-658.

Cyrillo F.C., Leal M.L., Moreno A., Motta P.M.P.C., Senhorini I.L., Vasconcellos S.A., Pinheiro S.R. & Benesi F.J. 2007. Teste de tuberculização em ovinos (*ovis aries*) experimentalmente sensibilizados. Arqs Inst. Biológico. 74:191-197.

Fernandes CE. 2009. Papel do ovino na cadeia epidemiológica da leptospirose pela *Leptospira* spp. sorovar Hardjo: fatores de risco que envolvem a infecção e transmissão entre ovinos e bovinos (dissertação). São Paulo.

Gutiérrez M., Tellechea, J. & García Marin J. F. 1998. Evaluation of cellular and serological diagnostics tests for the detection of *Mycobacterium bovis* infected goats. Vet Microb. 62: 281-290.

Higino S.S.S., Pinheiro S.R., Souza G.O., Dib C.C., Rosário T.R., Melville P.A., Alves C.J. & Azevedo S.S. 2011. *Mycobacterium bovis* infection in goats from the northeast region of Brazil. Braz Journ of Microb. 42:1437-1439..

Higino S. S. S. 2010. Tuberculose em caprinos e ovinos abatidos no semiárido da Paraíba, Brasil. 48 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária -Área de Sanidade Animal) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos.

Liébana E., Aranaz A., Uргуía J.J., Mateos A. & Dominguez L. 1998. Evaluation of the gamma-interferon assay for eradication of tuberculosis in goat herd. Aust Vet J. 76: 50-53.

Lofsted J. 2002. Distúrbios dos Sistemas Orgânicos. In: Smith, B. P. Medicina Interna de Grandes Animais. 3 ed. Barueri: Manole. p. 583-584.

Marcondes A. G. 2007. Micobacterioses de ovinos (*Ovis Áries*) do Estado de São Paulo, Brasil. Correlação entre teste imunológico, cultivo e histopatológico. 93 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. São Paulo.

Melo L.E.H., Mota R.A., Maia F.C.L., Fernandes A.C.C., Silva T.I.B., Leite J.E.B., Baptista Filho L.C.F. & Ramos C.A.N. 2012. Ocorrência e caracterização da tuberculose em caprinos leiteiros criados no estado de Pernambuco. Pesq Vet Bras. 32:831-837.

Melo M.T., Melo L.E.H., Saldanha S.V., Evêncio Neto J., Tenório T.G.S., Nascimento E.T.S. & Fernandes A.C.C. 2005. Ocorrência da tuberculose caprina no Estado de Pernambuco. Arqs Inst. Biológico. 72: 1-64.

Milne A. H. 1955. An outbreak of tuberculosis in goats in Tanganyica. Vet Rec. 647:374-375.

Morris R. S., Pfeiffer D. U. & Jackson R. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection. Vet. Microb. 40: 53-177. 1994.

Pate M., Svara T., Gombac M., Paller T., Zolnir-Dovc M., Emersic I., Prodinger W.M., Bartos M., Zdovc I., Krt B., Pavilik I, Cvetnic Z., Pogacnik M. & Ocepek M. 2006. Outbreak of Tuberculosis Caused by *Mycobacterium caprae* in a Zoological Garden. J Vet Med.53:387-392.

Pignata W.A., Alves C.J., Azevedo S.S., Dantas A.F.M., Gomes A.A.B., Remígio F.R., Lima F.S. & Mota P.M.P. 2009. Prevalência da tuberculose caprina no semiárido paraibano. Pesq Vet Bras. 29: 526-532.

Pignata W.A., Alves C.J., Azevedo S.S., Pinheiro S.R., Vasconcellos S.A., Almeida C.A.S., Dantas A.F.M. & Remígio F.R. 2010. Tuberculose Caprina no Semiárido Brasileiro. Arq Inst Biol.77: p. 339-342.

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. Anais... Campo Grande.

Pugh D. G. 2004. Clínica de Ovinos e Caprinos. Roca, São Paulo. 513 p.

Rebhum W. C. Doenças do gado leiteiro. 2000. Roca, São Paulo. 642 p.

Saldanha S.V., Evêncio-Neto J., Melo L.E.H., Melo M.T., Tenório T.G.S. & Fernandes A.C.C. 2005. Caracterização das alterações buco-dentais de caprinos criados no Sertão e Zona da Mata do Estado de Pernambuco. In: Reunião Anual do Instituto Biológico (RAIB), 18. São Paulo. Anais... São Paulo: Instituto Biológico.

Seva J., Menchén V., Navarro J.A. Pallarés F.J., Villar D., Vásquez F. & Bernabé A. 2002. Caprine tuberculosis eradication program: An immunohistochemical study, Small Ruminant Research.46:107-114.

Silva P.E.G., Pinheiro S.R., Leal M.L.R., Bertagnon H.G., Motta P.M.P.C., Senhorini I.L., Vasconcellos S.A. & Benesi F. J. 2006. Teste de tuberculinização em caprinos (*Capra hircus*) experimentalmente sensibilizados. Ciência Rural.36: 880-886.

Silva T.I.B., Neto H.L.S., Chaves R.A.H., Revorêdo R.G., Lins C.R.B., Souza A.C.M., Silva D.D., Fernandes A.C.C., Baptista Filho C.F. & Melo L.E.H. 2010. Tuberculose caprina: mitos ou risco iminente à saúde pública no estado de pernambuco? In: X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX. Recife. Anais... Recife: UFRPE.

Reynoso B.A., Casillas I.C.R., Aparicio E.D., Elizondo G.V. & Flores M.A.S. 1999. Diagnostico de tuberculosis im hatos de caprinos empleando la prueba intradermica doble comparativa y cultivo bacteriologico. Tecnica Pecuaria en Mexico. 37: 55-58.

Thorel M. F. 1980. Tuberculose de la chèvre: diagnostic biologique. Annales de Recherches Veterinaires. 11: 251-257.

Figura 1. Mapa da Mesorregião do Leste Alagoano identificando os municípios onde foram realizados os testes tuberculínicos nos ovinos e caprinos.



Legendas: A. Viçosa, B. União dos Palmares, C. Marechal Deodoro

Fonte: http://pt.wikipedia.org/wiki/Leste_Alagoano, modificado por Flávia Figueiraujo Jabour

Quadro 01 - Frequência absoluta e relativa de ovinos positivos e negativos no Teste Cervical Comparativo, distribuídos por municípios no estado de Alagoas, 2013.

MUNICÍPIOS	NÚMERO DE OVINOS SUBMETIDOS AO TCC*	FREQÜÊNCIA DE ANIMAIS NEGATIVOS NO TCC*	FREQÜÊNCIA DE ANIMAIS POSITIVOS NO TCC*
Viçosa	30	30	0
Marechal Deodoro (Duas propriedades)	96	95	1
União dos Palmares	149	148	1
TOTAL	275	273	2
PORCENTAGEM	100%	99,28%	0,72%

* teste cervical comparativo

Quadro 02 - Resultado dos ovinos positivos^a submetidos ao teste tuberculínico utilizando PPDa e PPDb após 72 horas da inoculação.

Animais Procedência	PPDa ⁰	PPDa ¹	PPDa ⁰ - PPDa ¹ (ΔA)	PPDb ⁰	PPDb ²	PPDb ⁰ - PPDb ² (ΔB)	Resultado ΔB - ΔA
Ovino 1 Marechal Deodoro	3,6	9,7	6,1	3,4	11,9	8,5	2,4 ^a
Ovino 2 União dos Palmares	3,5	9,7	6,2	3,2	12,8	9,6	3,4 ^a

(a) Animais positivos (b) Derivados de Proteína Purificada da estirpe D4 do *M. avium*, (c) Derivados de Proteína Purificada da estirpe AN5 do *Mycobacterium bovis*, (0) Cutimetria (mm) antes da inoculação da PPDa e PPDb, (1) Cutimetria (mm) após 72 horas da inoculação da PPDa, (2) Cutimetria (mm) após 72 horas da inoculação da PPDb, (ΔA e ΔB) Desvio Padrão.

APÊNDICE
QUESTIONÁRIO INVESTIGATIVO
ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E DOS FATORES DE RISCO ASSOCIADO A
INFECÇÃO PELO *Mycobacterium* sp EM OVINOS E CAPRINOS

1. Existe apoio técnico (zootecnista, veterinário, agrônomo, etc)?

não () sim()

2. Qual o sistema de criação?

() extensivo

() semi-intensivo

() intensivo

3. Criação consorciada:

() não () sim

Quais? _____

4. Qual é o tipo do rebanho?

() rebanho comercial

() rebanho elite

() comercial/elite

5. Qual a procedência dos animais?

() compra importado

() compra nacional

() leilão

() outras propriedades

6. Faz uso comum de um mesmo reprodutor entre propriedades?

não() sim()

7. Efetua compra e venda de animais?

não () sim ()

8. O leite de vaca é fornecido aos cabritos para prevenir a CAE?

não() sim (...)

9. Com relação ao manejo sanitário:

a. Faz quarentena para animais oriundos de outras localidades?

não () sim ()

b. Realiza higiene e assepsia das instalações?

não () sim ()

c. Realiza isolamento de animais doentes?

não () sim()

d. Realiza exames na aquisição de animais:

não () sim ()

Quais? _____

e. Realiza descarte dos animais:

Enterra? não () sim ()

Incinera? não() sim ()

10. O leite ou a carne é fornecida para fora?

não() sim ()

11. Realiza ou já realizou a tuberculinização nos animais da propriedade?

não () sim ()

ANEXOS

NORMAS DA REVISTA (INSTRUÇÕES AOS AUTORES)

Artigo 1- Diagnóstico de Doenças granulomatosas em ovinos e caprinos abatidos em matadouro municipal no Estado de Alagoas

Artigo 2 - Tuberculose em ovinos na região da zona da mata do estado de alagoas



ISSN 0100-736X *versión impresa*
ISSN 1678-5150 *versión online*

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.

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

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

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. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão recebidos para submissão somente os da área de Animais Selvagens.

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

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

Apresentação de manuscritos

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

a) o **Título** do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) **Autor(es)** deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) o **ABSTRACT** deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de "INDEX TERMS" ou "TERMOS DE INDEXAÇÃO", respectivamente;

d) o **RESUMO** deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) 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;

f) em **MATERIAL E MÉTODOS** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) 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 (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na **DISCUSSÃO** devem ser discutidos os resultados 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;

i) as **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

j) **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) 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-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences), o "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados (www.pvb.com.br).

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

a) os trabalhos devem ser submetidos **segundo o exemplo de apresentação de fascículos**

recentes da revista e do modelo constante do site sob "Instruções aos Autores" (www.pvb.com.br). A digitalização deve ser na fonte **Helvética, corpo 11, entrelinha simples**; a **página** deve ser **no formato A4, com 2cm de margens** (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta "Inserir" do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; 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. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails de outros autores;

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 até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. **Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, "(Resumo)" ou "(Apud Fulano e o ano.)"**; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) 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: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das **REFERÊNCIAS** deverá ser apresentada **isenta do uso de caixa alta**, com os nomes científicos em itálico (grifo), e **sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista**, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) **originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica**. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão "jpg"), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse **caso**, 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 inferior da figura pela palavra "pé". Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos ("slides"). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e **serão apresentadas no final do trabalho**.

5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e **colocados no final do texto**. 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, 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.