

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Paratuberculose em Ruminantes no Semiárido Paraibano

Dissertação apresentada a
Universidade Federal de Campina
Grande – UFCG em cumprimento
do requisito necessário para
obtenção do título de Mestre em
Medicina Veterinária.

JOÃO MARCOS DE ARAUJO MEDEIROS

PATOS-PB

2011



CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL - CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Paratuberculose em Ruminantes no Semiárido Paraibano

Dissertação apresentada a
Universidade Federal de Campina
Grande – UFCG em cumprimento
do requisito necessário para
obtenção do título de Mestre em
Medicina Veterinária.

JOÃO MARCOS DE ARAÚJO MEDEIROS

Prof. Dr. Franklin Riet-Correa

Prof. Dr. Felício Garino Júnior

Orientadores

PATOS-PB

2011

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DA UFCG

CSTR - CENTRO DE PATOS - PB

M488p

2011

Medeiros, João Marcos de Araujo

Paratuberculose em ruminantes no semiárido paraibano / João Marcos de Araujo Medeiros. - Patos: CSTR/PPGMV, 2011.

38 p.

Inclui bibliografia.

Orientador (a): Franklin Riet-Correa

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

1 – Doença Infecciosa em Ruminantes – Dissertação. 2 – Paratuberculose. 3 - Caprinos e ovinos. 4 – Pequenos ruminantes. I – Título.

CDU: 616.9

NOME: MEDEIROS, João Marcos de Araujo

Título: Paratuberculose em Ruminantes no Semiárido Paraibano

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Campina Grande – UFCG em cumprimento do requisito necessário para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Aprovado em 30 de Agosto de 2011

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Franklin Riet-Correia

Orientador

Prof. Dr. Felício Garino Junior

Orientador

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

(1º membro)

Prof. Dr. Sergio Santos Azevedo

(2º membro)

Dedico

Aos Meus Pais e Minha irmã

A Meu querido e Saudoso avô Apolônio Dias "*in memoriam*"

AGRADECIMENTOS

A Deus, o grande mestre do Universo, o qual devemos todas as nossas conquistas, pois o mesmo é a luz que clareia e norteia nossos pensamentos e ideais, sendo o defensor de nossas atitudes e ações.

Aos meus pais, Expedito e Maria Inácia, que sempre lutaram muito para promover a minha educação, e por sempre terem medido esforços para tornar os meus sonhos realidade. Tudo que consegui na minha vida foi através dos seus esforços.

Ao meu orientador Professor Dr. Franklin Riet-Correia, ás Professoras Dra. Sara Vilar Dantas Simões, Msc. Sônia Maria de Lima, Dra. Rosane Maria da Trindade Medeiros, Aos Professores Dr. Pedro Isídoro da Nóbrega Neto, Dr. Eldinê G. Miranda Neto, Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas, pela Amizade, por compartilhar comigo conhecimentos fundamentais para minha formação profissional e principalmente pelo exemplo de profissionalismo e dedicação.

Ao Professor Dr. Biólogo Felício Garino Junior, pela paciência, Compreensão, amizade e seu exemplo de honestidade. Obrigado por tudo.

A todos da Minha Família, pela confiança e incentivo depositado, em especial a minha tia Ana Maria, por toda dedicação, carinho e atenção que sempre teve comigo.

Aos meus grandes amigos: Glauco, Adriana, Tatiane, Davi e Gildeni, pela demonstração de Amizade, Carinho e horas de Convívio inesquecíveis.

Aos amigos, Diego Medeiros, Arthur Pombo, Erasmo, Natanael e Rodrigo Matos, pela paciência e contribuições no decorrer da execução desse Trabalho.

Aos Professores do Programa de pós- graduação em Medicina Veterinária da UFCG, Campus de Patos, pelos conhecimentos que me passaram e, acima de tudo, pela amizade.

Aos funcionários do HV: Neide, Josemar Medeiros, Fiiinha, Seu Cuité, Nevinha, Dona Fátima, Solange e Dona Nenê, pela Amizade, boas risadas e pela ajuda, pois sem vocês não teria conseguido.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

Enfim, agradeço a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para realização deste trabalho, apoiando e incentivando e que mesmo não sendo citados não foram esquecidos e fazem parte da minha vida Pessoal e acadêmica.

A todos Muito Obrigado.

SUMARIO

Lista de Quadros.....	8
Introdução.....	9
Referências.....	10
Capitulo I Paratuberculose em caprinos e ovinos no estado da Paraíba	11
Abstract.....	12
Resumo.....	13
Introdução.....	14
Material e Métodos.....	15
Resultados.....	16
Discussão e Conclusão.....	22
Referências.....	24
Capitulo II Frequência de anticorpos para paratuberculose em bovinos no semiárido paraibano¹	28
Abstract.....	29
Resumo.....	30
Introdução.....	30
Material e Métodos.....	30
Resultados.....	33
Discussão e Conclusão.....	35
Referências.....	36

Lista de quadros

Capítulo I	PARATUBERCULOSE EM CAPRINOS E OVINOS NO ESTADO DA PARAÍBA.....	
Quadro 1.	Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos contra o Map em 734 amostras de Caprinos em 32 propriedades de 10 municípios do semiárido Paraibano.....	17
Quadro 2.	Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos contra o Map em 392 amostras de ovinos em 16 propriedades de 10 municípios do semi árido Paraibano.....	18
Quadro 3.	Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos contra o MAP em 14 municípios do semiárido Paraibano.....	19
Quadro 4.	Resultados dos testes de ELISA, para detecção contra o Map, das 734 amostras de caprinos de diferentes raças no semiárido Paraibano.....	20
Quadro 5.	Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos contra o Map em 392 amostras de ovinos de diferentes raças no semiárido Paraibano.....	20
Quadro 6.	Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos contra o Map em caprinos e ovinos de diferentes idades no semi árido Paraibano.....	21
Quadro 7.	Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos contra o Map em caprinos e ovinos com diferentes escores corporais no semi árido Paraibano.....	21
Capítulo II	Frequência de anticorpos para paratuberculose em bovinos no semiarido paraíbano ²	
Quadro 1.	Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos contra o <i>M. avium subesp. paratuberculosis</i> em 486 amostras de Bovinos em 36 propriedades de 11 municípios do semiárido Paraibano	34

INTRODUÇÃO

No semiárido brasileiro, as doenças infecciosas de ruminantes são importantes e o seu conhecimento é de fundamental importância para estabelecer medidas eficientes na prevenção e controle.

A paratuberculose (doença de Johne), causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* é uma doença crônica e incurável, responsável por importantes perdas econômicas em ruminantes no Brasil (Riet-Correa & Driemeier 2007, Moravkova et al. 2008), além de ter potencial zoonótico, que pode também afetar o homem (Chiodini & Rossiter 1996). No Brasil, e em alguns estados do nordeste a doença tem sido diagnosticada em bovinos (Mota et al. 2007, Riet-Correa & Driemeier 2007), bubalinos (Mota et al. 2010) e caprinos e ovinos (Oliveira et al. 2010).

Esta Dissertação é composta por dois artigos científicos, apresentados em capítulos, os quais foram submetidos à Pesquisa Veterinária Brasileira. Ambos os artigos descrevem estudos realizados com paratuberculose em ruminantes no semiárido paraibano, desenvolvidos em decorrer dos dois anos de realização do Mestrado no programa de pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande como parte dos requisitos para o título de Mestre em Medicina Veterinária

O primeiro artigo refere-se a um estudo sorológico para paratuberculose em caprinos e ovinos no estado da Paraíba, o segundo descreve quatro casos diagnosticados em bovinos no Hospital Veterinário e um estudo sorológico para paratuberculose em bovinos no semiárido Paraibano.

Referências

- Chiodini R.J. & Rossiter C.A. 1996. Paratuberculosis: A potential zoonosis? Vet. Clin. North. Am., Food. Anim. Pract. 12(2):457-467
- 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(3): 237-242.
- 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. Arqs Inst. Biológico, 74(2): 73-79.
- 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 caprinos e ovinos no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 30(1):67-72.

CAPÍTULO I

PARATUBERCULOSE EM CAPRINOS E OVINOS NO ESTADO DA PARAÍBA

O Presente trabalho foi formatado segundo as normas da Revista Pesquisa Veterinária Brasileira, de acordo com que estabelece a norma n° 01/2008 de 2011 de julho de 2008, do programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural- Campus de Patos-PB

Paratuberculose em Caprinos e Ovinos no Estado da Paraíba³.

João M. A. Medeiros⁴, Felício Garino Junior², Arthur P. Almeida², Erasmo A. Lucena² e Franklin Riet-Correa^{2*}.

ABSTRACT. - Medeiros J.M.A., Riet-Correa F., Garino Jr F., Almeida A.P. & Lucena E.A. 2011. [Paratuberculosis in goats and sheep in the state of Paraíba.] Paratuberculose em caprinos e ovinos no estado da Paraíba. Pesquisa Veterinária Brasileira XX(X):XX-XX. Hospital Veterinário, CSTR, Campus de Patos, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB 58700-000, Brasil. E-mail: franklin.riet@pq.cnpq.

Antibodies to paratuberculosis were determined by ELISA in serum samples of 734 goats and 392 sheep, without clinical signs, from 14 municipalities of the semiarid region of Paraíba state, Brazil. In goats the mean frequency was 48.3%, varying from 8.89% to 94.12% and in sheep it was of 50.63%, varying from 3.70% to 92.50%. Of the 46 farms studied, 44 (95.65%) had at least one animal seropositive. All municipalities has affected animals with a frequency varying from 20% to 70%. In goats of unknown breed and crossbreds the prevalence (48.56%) was significantly lower ($P=0.0270$) than in pure breed goats (57.24%). In sheep with body scores of 1 to 3, the frequency (59.39%) was significantly higher ($P=0.0034$) than in sheep with body score from 3 to 5 (42.42%). Non significant differences were observed in goats and sheep of different ages, in goats with different body score, and in sheep of different breeds. In the microbiologic examination, after 16 weeks of incubation in HEYM medium with mycobactin J, colonies similar to those of do *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* were observed in cultures of 9 (6.58%) out of 180 fecal samples, being one from goats and 8 from sheep. In the Ziehl Nieelsen the bacteria had morphologic

³ Enviado para publicação em...

Aceito em.....

⁴ Hospital Veterinário, CSTR, Campus de Patos, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB 58700-000, Brasil.* Autor para correspondência.

and staining characteristics similar to *M. avium* subsp. *paratuberculosis*. These results suggest that paratuberculosis is endemic with high prevalence in the semiarid region of Paraíba. It is necessary to develop research on the epidemiology and control measures of the disease in the conditions of this region. Also the risk for human beings should be determined, mainly in relation with milking goats.

INDEX TERMS, ELISA, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, paratuberculosis, small ruminants.

Resumo. - Mediante o teste de ELISA foi determinada a presença de anticorpos para *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* em amostras de soro de 734 caprinos e 392 ovinos, sem sinais clínicos aparentes, provenientes de 14 Municípios do semiárido Paraibano. Em caprinos, a frequência média foi de 48,3%, variando de 8,89% a 94,12% e, em ovinos, foi de 50,63%, variando de 3,70% a 92,50%. Das 46 propriedades estudadas, 44 (95,65%) apresentaram pelo menos um animal soropositivo. Nos 14 municípios avaliados 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 ($P < 0,0270$) que a de caprinos de raças puras (57,24%). Em ovinos com escore de 1 a 3 a frequência (59,39%) foi significativamente maior ($P = 0,0034$) que a frequência em ovinos com escore superior a 3 (42,42%). Não houve diferença significativa nas frequências em caprinos e ovinos de diferentes idades, em caprinos com diferente escore corporal e em ovinos de diferentes raças. No exame microbiológico, cultivo em meio HEYM com micobactina J, foram observadas colônias semelhantes às do Map em 9 (6,58%) das 180 amostras de fezes, sendo uma de caprinos e 8 de ovinos. Na coloração de Ziehl Nielsen as bactérias apresentavam características morfo-tintórias de Map. Os resultados obtidos indicam alta frequência de caprinos e ovinos infectados com Map no semiárido da Paraíba, tornando-se necessário desenvolver pesquisas sobre a epidemiologia e forma de controle da doença nas condições de criação da região.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: ELISA, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, paratuberculose, pequenos ruminantes.

INTRODUÇÃO

A paratuberculose ou doença de Johne é uma enfermidade infecto-contagiosa crônica, incurável, de distribuição mundial. Acomete bovinos, ovinos, caprinos e bubalinos, e outros ruminantes selvagens, e acomete com menor frequência, suínos, lebres e equinos. O agente etiológico é o *Mycobacterium avium*, subespécie *paratuberculosis* (Map), que causa enterite e linfadenite granulomatosas (Clarke 1997, Harris & Barletta 2001, Barker 2007, Riet-Correa & Driemeier 2007, Moravkova et al. 2008).

A doença é responsável por perdas econômicas importantes em vários países, principalmente nos EUA, onde foi verificado um prejuízo de 200 a 250 milhões de dólares por ano (Ott et al. 1999).

A infecção em ruminantes ocorre após o nascimento, principalmente pela ingestão de água e alimentos contaminados, com fezes de animais infectados, leite e colostro de animais infectados (Clarke 1996). Ocorre também transmissão pela via intra-uterina (Radostits et al. 2007).

Em ovinos e caprinos, a doença manifesta-se, principalmente, por emaciação progressiva; a diarreia não é grave ou está ausente, diferente dos bovinos em que a diarreia é um sinal clínico característico. Os ovinos podem ser parcialmente anoréxicos e pode ocorrer perda de lã. Nos caprinos, a depressão e a dispnéia são evidentes, mas nos ovinos não são tão visíveis (Radostits et al. 2007). O diagnóstico dos casos subclínicos pode ser realizado por isolamento de bactérias das fezes ou leite e provas sorológicas. O diagnóstico confirmatório pode ser por material de necropsia e por estudo histológico das lesões (Riet-Correa & Driemeier 2007).

Diversos testes sorológicos têm sido utilizados para verificar a presença de anticorpos contra o Map nos rebanhos (Tripathi et al. 2006). O ELISA é visto como teste sorológico de eleição, principalmente, pela conveniência da coleção de amostras, procedimento laboratorial rápido e baixo custo. A especificidade deste teste se torna elevada pela absorção do soro com outra micobactina do *Mycobacterium phlei*, o que remove os anticorpos não específicos, evitando assim as reações cruzadas contra os antígenos do Map. Os testes comerciais que incorporam antígenos mais específicos a Map proporcionam uma sensibilidade de detecção de 70% a 80 % e uma especificidade de 89% a 95 % (Stabel 1998).

No Brasil há relatos da paratuberculose em bovinos em diversos Estados das regiões Sul e Sudeste (Portugal et al. 1979, Ramos et al. 1986, Poester e Ramos 1994, Driemeier et al. 1999, Gomes et al. 2002) e também nos Estados de Pernambuco (Mota et al. 2007) e Paraíba (Oliveira et al. 2008). Em ovinos e caprinos a doença foi recentemente diagnosticada na Paraíba (Oliveira et al. 2010).

Devido às características da paratuberculose em caprinos e ovinos, causando emagrecimento ou menor produtividade, a doença pode ser confundida com outras causas de emagrecimento; portanto é provável que, na região semiárida do Brasil, seja subdiagnosticada, ocasionando perdas econômicas significativas. O objetivo deste trabalho foi estimar a frequência de anticorpos contra o Map em caprinos e ovinos no semiárido Paraibano.

MATERIAL E METODOS

O projeto foi realizado no período de novembro de 2009 a dezembro de 2010. As amostras foram coletadas em rebanhos de quatro mesorregiões da Paraíba (Sertão, Cariri Ocidental, Cariri Oriental e Agreste) que tem o maior número de caprinos e ovinos do Estado. Foram testadas 734 amostras de soro de caprinos e 392 de ovinos, assintomáticos, de 46 rebanhos diferentes. Os rebanhos foram escolhidos de acordo com as possibilidades de acesso às fazendas e a concordância dos produtores. Em cada fazenda foram coletadas amostras de aproximadamente 10% dos animais de cada propriedade. De cada animal foram coletados 10 mL de sangue por venopunção da jugular com agulhas acopladas a tubos a vácuo. Foram coletadas, também, amostras de fezes, colhidas da ampola retal de 86 caprinos e 94 ovinos positivos na prova de ELISA. A seleção dos animais para a coleta das amostras foi por conveniência nas propriedades. O acesso aos produtores foi através dos agentes de desenvolvimento rural sustentável do projeto Bioma Caatinga da Paraíba.

As amostras de sangue foram centrifugadas a 1700 x g por 15 minutos e os soros transferidos para 3 tubos de eppendorf de 3mL cada, mantidos a - 70° C e, posteriormente testadas através do teste de ELISA utilizando um kit comercial⁵ anti-Map. Para a leitura do teste de ELISA utilizou-se uma Leitora de microplaca⁶. Para a

⁵ Alamar Tecno-Científica Ltda, Diadema, SP, Brasil

⁶ Pharma Nostra – São Paulo, Brasil

interpretação dos resultados dos animais positivos no teste de ELISA foi considerado um ponto de corte de $P > 0,250$.

Para o exame microbiológico, foram utilizadas as fezes dos animais de cada propriedade que obteve o maior resultado no teste de ELISA. As amostras de fezes foram cultivadas de acordo com a metodologia descrita por Stabel (1997). As análises estatísticas foram realizadas por meio do teste de Qui-quadrado (χ^2) com correção de Yates e o nível de significância adotado foi de 5%. Os dados foram analisados estatisticamente utilizando o programa GRAPHPAD INSTAT versão 3.00 para Windows 95, GraphPad Software.

RESULTADOS

Os resultados dos testes sorológicos por fazenda, em caprinos e ovinos, apresentam-se nos Quadros 1 e 2, respectivamente. Das 46 propriedades estudadas, 44 (95,65%) apresentaram pelo menos um animal soropositivo. Em caprinos, a frequência média foi de 48,3%, em ovinos, foi de 50,63%. Somente em uma propriedade de ovinos e uma de caprinos não foram encontrados animais positivos.

As frequências por município, raça, idade e escore corporal encontram-se nos Quadros 3, 4, 5, 6 e 7, respectivamente.

Quadro1. Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos contra o Map em 734 amostras de Caprinos em 32 propriedades de 10 municípios do semiárido Paraibano

Fazenda/ município	Total	Testados	Positivos	%
1/Patos	64	30	13	43,33
2/Patos	12	8	6	75,00
3/Ouro velho	55	30	16	53,33
4/Ouro velho	45	18	10	55,56
5/Ouro velho	27	17	16	94,12
6/Ouro velho	65	21	6	28,57
7/Ouro velho	300	22	12	54,55
8/Prata	150	43	28	65,12
9/Prata	140	21	8	38,10
10/Prata	59	16	2	12,50
11/Prata	76	26	15	57,69
12/Prata	50	31	16	51,61
13/ Amparo	100	44	28	63,64
14/ Amparo	56	21	9	42,86
15/ Amparo	34	16	10	62,50
16/ Amparo	63	28	7	25,00
17/ Amparo	100	15	7	46,67
18/Sumé	78	22	7	31,82
19/Sumé	65	18	4	22,22
20/Sumé	50	27	15	55,56
21/Sumé	70	21	9	42,86
22/Sumé	120	20	6	30,00
23/ Monteiro	200	28	0	0
24/ Monteiro	44	19	5	26,32
25/ Monteiro	25	13	7	53,85
26/ Monteiro	30	19	13	68,42
27/ Monteiro	95	30	27	90,00
28/Paulista	34	10	2	20,00
29/Amparo	100	45	4	8,89
30/Campina Grande	45	20	14	70,00
31/Soledade	43	20	5	25,00
32/ Maturéia	27	15	3	20,00
TOTAL	2412	734	330	44,96

Quadro 2. Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos contra o Map em 392 amostras de ovinos em 16 propriedades de 10 municípios do semiárido Paraibano

Fazenda/ município	Total	Testados	Positivos	%
1/Patos	15	13	12	92,31
2/Patos	84	23	12	52,17
3/Paulista	380	34	31	91,18
4/Paulista	100	25	5	20,00
5/São Mamede	86	20	14	70,00
6/São José do Espinharas	475	40	37	92,50
7/São José do Espinharas	130	27	1	03,70
8/Boa Vista	100	25	4	16,00
9/Boa Vista	130	25	13	52,00
10/Boa Vista	250	25	14	56,00
11/Boa Vista	34	20	7	35,00
12/Boa Vista	150	25	13	52,00
13/Boa Vista	30	20	17	85,00
14/Boa Vista	207	24	20	83,33
15/ São José do Bonfim	98	26	12	46,15
16/ São José do Bonfim	190	20	0	0
Total	2459	392	212	54,08

**Quadro 3. Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos
contra o MAP em 14 municípios do semiárido Paraibano**

Municípios	Caprinos		Ovinos	
	Nº	Positivos Nº (%)	Nº	Positivos Nº (%)
Patos	38	19 (25,33)	36	24 (66,66)
Paulista	10	2 (20,00)	59	36 (61,01)
São José do Bonfim	-	-	46	12 (26,08)
Maturéia	15	3 (20,00)	-	-
Amparo	169	65 (38,46)	-	-
Sumé	108	41 (37,96)	-	-
Monteiro	109	52 (47,70)	-	-
Prata	137	69 (50,36)	-	-
Ouro Velho	108	60 (55,55)	-	-
São José das Espinhara	-	-	67	38 (56,71)
Boa Vista	-	-	164	88 (53,65)
Campina Grande	20	14 (70,00)	-	-
São Mamede	-	-	20	14 (70,00)
Soledade	20	5 (25,00)	-	-
Total	734	330 (44,96)	392	212 (54,08)

Quadro 4. Resultados dos testes de ELISA, para detecção contra o Map em 734 amostras de caprinos de diferentes raças no semiárido Paraibano

Raça	Total	Positivo	%
Sem raça definida	114	59	51,75
Mestiça – Alpina Americana	6	2	33,33
Mestiça– Anglo-Nubiana	25	14	56,00
Mestiça – Boer	1	0	0,00
Mestiça - Parda	91	36	39,56
Mestiça - Saanen	21	15	71,43
Mestiça - Toggenburg	20	9	45,00
Anglo - Nubiana	9	5	55,56
Boer	5	3	60,00
Moxotó	24	10	41,67
Murciana	3	2	66,67
Alpina Britânica	180	90	50,00
Saanen	204	131	64,22
Savana	22	14	63,64
Toggenburg	9	6	66,67
Total	734	396	53,95

Quadro 5: Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos contra o Map em 392 amostras de ovinos de diferentes raças no semiárido Paraibano

Raças	Total	Positivo	%
Santa Inês	352	155	44,03
Dorper	37	14	37,84
Mestiça Santa Inês	3	1	33,33
Total	392	170	43,37

Quadro 6. Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos contra o Map em caprinos e ovinos de diferentes idades no semiárido Paraibano

Idade	Caprinos		Ovinos	
	Nº	Positivos Nº (%)	Nº	Positivos Nº (%)
1 ano	91	38 (41,76)	71	25 (35,21)
2 anos	205	91 (44,39)	99	60 (60,67)
3 anos	154	154 (50,65)	96	60 (62,5)
4 anos	269	113 (42,00)	126	66 (52,38)
5 anos	12	8 (66,67)	0	0
6 anos	3	2 (66,67)	0	0
Total	734	44,96	392	53,83

Quadro 7. Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos contra o Map em caprinos e ovinos com diferentes escores corporais no semiárido Paraibano

Escore corporal	Caprinos		Ovinos	
	Nº	Positivos Nº (%)	Nº	Positivos Nº (%)
1	0	0	7	7 (100)
1,5	2	1(50)	13	10 (76,92)
2	39	16(41,03)	39	30 (76,92)
2,5	153	61 (39,87)	110	63 (57,27)
3	305	152 (49,84)	129	64 (49,61)
3,5	67	36 (53,73)	36	14 (38,89)
4	138	51 (36,96)	45	22 (48,89)
4,5	1	0	4	1 (25)
5	29	13 (44,83)	9	1 (11,11)
Total	734	330 (44,96)	392	212 (54,08)

Nos 14 municípios avaliados houve a presença de animais sorologicamente positivos, variando de 20%, em Maturéia, Soledade e Paulista, localizadas no sertão, a 70% em Campina Grande, localizado no agreste e São Mamede, no sertão. Houve diferença estatística entre caprinos (44,96%) e ovinos (54,08%) nos 14 municípios estudados com ($P=0,004$) (Quadro 7).

Não foram encontradas diferenças significativas entre as raças (Quadro 4); no entanto, quando foram comparados os dados dos animais SRD e mestiços, com frequência de 48,56%, com os das raças puras, com frequência de 57,24%, verificaram-se diferenças significativas ($P=0,0270$).

Em ovinos, a raça Santa Inês, em relação ao total de amostras, apresentou os maiores índices de animais soropositivos com 44,03% (Quadro 5), porém não houve diferença estatística entre as raças estudadas ($P=0,5830$).

Não foram verificadas diferenças significativas na frequência entre animais de diferentes idades (Quadro 6). Quanto ao escore corporal dos animais avaliados (Quadro 7) também não foram encontradas diferença significativa de frequência entre animais com diferentes escores. No entanto, em ovinos quando agrupados os animais com escore de 1 a 3, a frequência (59,39%-174/298) foi significativamente maior ($P=0,034$) que a frequência em ovinos com escore superior a 3 (42,42%-38/94).

No exame microbiológico, colônias semelhantes às do Map foram observadas em 9 (6,58%) das 180 amostras de fezes, sendo uma de caprinos e 8 de ovinos. Na coloração de Ziehl Nielsen as bactérias apresentavam características morfo-tintórias de Map.

DISCUSSÃO

A alta frequência de anticorpos contra Map em caprinos e ovinos no semiárido da Paraíba alertam para a importância da doença na região. Essa frequência é maior que as observadas em outros países, sendo 11,7% em ovinos na Espanha (Mainar-Jaime et al. 1998), 4,6% a 15,3% em caprinos na Coreia (Kyung et al. 2006), 2% em ovinos em Portugal (Coelho et al. 2007), 11,6% em ovinos e 4,6% em caprinos na Índia (Tripathi et al. 2007), e de 8,5% em ovinos jovens na Índia (Singh et al. 2007). As causas desta alta frequência devem ser investigadas; no entanto, é provável que seja devida ao tipo de manejo utilizado na região, onde apesar de muitos produtores utilizarem o manejo extensivo com animais a pastoreio na caatinga e baixa lotação, de 1-2 ovinos ou

caprinos por hectare, os rebanhos são encerrados à noite, permanecendo misturados animais adultos com jovens e, frequentemente, em condições de higiene inadequadas. O estudo dos fatores de risco associados à ocorrência de anticorpos ajuda a esclarecer aspectos importantes da epidemiologia da doença na região.

A alta frequência de anticorpos sugere que a doença é importante na região e que causa prejuízos econômicos consideráveis; no entanto, é necessário quantificar essas perdas, determinado a ocorrência de doença clínica e subclínica. Para isso devem ser investigadas as causas de emagrecimento nos rebanhos caprino e ovino, estabelecendo o diagnóstico diferencial com outras causas de emagrecimento, incluindo as parasitoses e a subnutrição. A possibilidade de a doença estar ocasionando emagrecimento de animais é sugerida pela significativa maior frequência de anticorpos em ovinos com escore corporal de 1 a 3, quando comparada à dos ovinos com escore corporal acima de 3. No entanto, em caprinos não foram observadas diferenças entre animais com diferente escore corporal.

Devem se pesquisados, também, os possíveis fatores de riscos de transmissão da doença ao homem. Apesar de não comprovado é possível que o Map seja o agente da doença de Chron em humanos (Slana et al. 2009). Neste caso, a transmissão pode ocorrer através do leite, já que o Map resiste à pasteurização (Millar et al. 1996). A presença de Map no leite caprino comercializada no nordeste deve ser pesquisada, assim como possíveis medidas para evitar a transmissão deste agente ao homem.

Considerando a alta frequência de anticorpos para paratuberculose nos rebanhos ovino e caprino da Paraíba é difícil estabelecer medidas de controle, exceto recomendações de aspecto geral, úteis também, para o controle de outras doenças: higiene das instalações, separação dos animais por idade, e, na caprinocultura leiteira, separação dos cabritos com administração de colostro com tratamento térmico para CAE ou colostro de bovino. Recomenda-se também a eliminação de animais que permanecem magros, mesmo com boa alimentação. Neste ponto é necessário ressaltar que a prova de ELISA, recomendada para estimar a prevalência da doença nos rebanhos (Collins & Sockett 1993), não é adequada para o diagnóstico, identificação e possível eliminação de animais afetados (Rossiter & Burhans 1996). No Brasil, também em bovinos, espécie na qual a prevalência de casos clínicos é baixa, a frequência de anticorpos é alta, entre 30% a 60,24% (Rivera 1996, Laranja-da-Fonseca et al. 1999).

No estudo microbiológico obteve-se uma baixa percentual de isolamento do *Map*, em 8 de 94 amostras de ovinos e em 1 de 86 amostras em caprinos. Esses resultados são semelhantes aos obtidos por outros autores (Coelho et al. 2009, Dimareli-Malli et al. 2009), confirmando a baixa sensibilidade do isolamento para o diagnóstico individual de paratuberculose.

Conclui-se que há uma alta frequência de anticorpos para o *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em rebanhos de caprinos e ovinos no Estado da Paraíba, sendo necessário desenvolver novas pesquisas para determinar a importância econômica da doença clínica, como causa de emagrecimento, ou subclínica, como causa de menores índices de produção. No caso de confirmar a importância econômica da enfermidade deverão ser estudadas, também, medidas de controle adequadas para a região.

Agradecimentos. -Os autores agradecem aos Agentes de Desenvolvimento Regional e Sustentável do (projeto Bioma Caatinga) o qual tem como parceiros o SEBRAE, Fundação Banco do Brasil, cooperativas e associações, pela colaboração na execução das coletas.

Ao CNPq pela concessão da bolsa do Mestrado e financiamento do projeto (processo número 471783/2008-0)

REFERÊNCIAS

- Barker I.K. 2007. The alimentary system, p. 1-296. In: Maxie M.G., Jubb Kennedy & Palmer (Eds), Pathology of Domestic Animals. Vol.2. 5th ed. Elsevier, Oxford.
- Clarke C.J. & Little D. 1996. The pathology of ovine paratuberculosis: Gross and histological changes in the intestine and other tissues. J. Comp. Pathol. 114(4):419-437.
- Clarke C.J. 1997. The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species: A review. J. Comp. Pathol. 116(3):217-261.
- Coelho A.C.M.L., Pinto S., Silva A.M., Coelho J. & Rodrigues R.A. 2007. Seroprevalence of ovine paratuberculosis infection in the Northeast of Portugal. Small Rum. Res. 71:298-303.
- Coelho A.C., Pinto M.L., Coelho A.M. & Rodrigues J. 2009. Comparação de duas técnicas de isolamento de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em

- amostras de fezes de ovinos com suspeita clínica de paratuberculose. *Pesq. Veterinário. Bras.* 29 (5) :415-420.
- Collins M.T & Socket D.C. 1993. Accuracy and economics of the USDA. Licensed enzyme- linked immunosorbent assay for bovine Paratuberculosis. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 203(10):1456-1463.
- Dimareli-Malli Z., Stevenson K., Sarris K & Sossidou K. 2009. Study of microbiological and molecular typing aspects of paratuberculosis in sheep and goats in Northern Greece. *56(6-7):285-290.*
- Driemeier D., Cruz C.E.F., Gomes M.J.P., Cordellini G.L., Loretto A.P & Colodel E.M. 1999. Aspectos Clínicos e Patológicos da paratuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 19(3/4):109-115.
- Gomes M. J. P. 2002. Paratuberculose bovina: um grande desafio sanitário brasileiro. *Minas de leite.* 3 p.19-21.
- GRAPHPAD INSTAT versão 3.00 para Windows 95, GraphPad Software, San Diego, Califórnia, EUA, www.graphpad.com.
- Harris N.B. & Barletta R.G. 2001. *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*. in *Vet. Med. Clin. Microbiol.* 14 (3):489-512.
- Kyung W. L., Byeong Y. J., Oung K. M., Dong k.Y., Su H.L., Ji Y.K & Chang H. K. 2006. Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subspecies *Paratuberculosis*. in Korean Black Goats(*Capra hircus aegragus*), *J. Vet. Med. Sci.* 68(12):1379-1381.
- Laranja .F.L., Santos M.V., Pereira C.C., Olival A.A., Heinemann M.B. & Richtzenhain L.J.1999. Identificação da presença de anticorpos contra *Mycobacterium paratuberculosis* em bovinos leiteiros do estado de São Paulo. Congresso Brasileiro de Buiatria, 3. São Paulo. *Arq. Inst. Biol.* 66(supl.):122.
- Mainar-Jaime R.C., Vazquez-Boland J.A. Factors associated whit seroprevalence to *Mycobacterium paratuberculosis* in small ruminant farms in the Madrid region (Spain). *Prev Vet Med* 1998; 34:317-327.
- Millar D., Ford J., Sanderson J., Withey S., Tizard M., Daron T. & Herman-Taylor J. 1996. *IS900* PCR to detect *Mycobacterium Paratuberculosis* in retail supplies of whole pasteurized cows' milk in England and Wales. *Applied Environm. Microbiol.* 62:3446-3452.

- Moravkova M., Hlozek P., Beran V., Pavlik I., Preziuso S., Cuteri V. & Bartos M. 2008. Strategy for the detection and differentiation of *Mycobacterium avium* species in isolates and heavily infected tissues. Res. Vet. Sci. 85(2):257-264.
- 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, PE. Arqs Inst. Biológico, São Paulo, 74(2):73-79.
- Oliveira D.M., Pimentel L.A., Rodrigues T.A., Dantas A.F.M., Neto E.G.M., Simões S.V.D. & Riet-Correa F. 2008. Paratuberculose em bovinos no estado da Paraíba. Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário (Endivet), Campo Grande, MS, p.203-204. (Resumo)
- 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 caprinos e ovinos no Brasil. Pesq Vet. Bras 30(1):67-72.
- Ott S.L., Wells S.J. & Wagner B.A. 1999. Herd-level economic losses associated with Johne's disease on US dairy operations. Prev. Vet. Med. 40(3-4):179-192.
- Poester F.P. & Ramos E.T. 1994. Infecção experimental em caprinos com *Mycobacterium paratuberculosis* de origem bovina. Ciência Rural 24(2):333-337.
- Portugal M.A.S.C., Pimentel, J.N., Saliba, A.M., Baldassi, L. Sandoval, E.F.D. 1979. Ocorrência de paratuberculose no estado de Santa Catarina. O Biol. São Paulo, 45:19-24.
- Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W. & Constable P.T. 2007. Veterinary Medicine 10th ed. Saunders, Elsevier, Edinburgh, p.1017-1044.
- Ramos E.T., Poester, F.P., Correia, B. L., de Oliveira, S.J., Rodrigues, N.C., & Canabarro, C.E. 1986. Paratuberculose em bovinos no estado do Rio Grande do Sul. A Hora Vet. 34p.28-32.
- Riet-Correa F. & Driemeier D. 2007. Paratuberculose, p.407-414. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), Doenças de Ruminantes e Equinos. Vol.1. 3^a ed. Pallotti, Santa Maria, RS.
- Rivera F.E.B. 1996. Levantamento sorológico utilizando-se a técnica de ELISA em rebanhos apresentando problemas reprodutivos. I. Enterite paratuberculose. Anais I encontro de laboratórios de diagnóstico Veterinários do cone do Sul, p.20-22.

- Rossiter C. A & Burhans, W. S. 1996. Farm-specific approach to paratuberculosis (John's disease) control. *Vet. Clin. North Am. Food An. Pract.* 12:383-415.
- Singh S.V., Singh A.V., Singh P.K., Gupta V.K., Kumar S. & Vohra J. 2007. Seroprevalence of paratuberculosis in young kids using 'Bison type', *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* antigen in plate ELISA. *Small Rum. Res.* 70(2-3):89-92.
- Stabel J.R. 1997. An improved method for cultivation of *Mycobacterium paratuberculosis* from bovine fecal samples and comparison to three methods. *J. Vet. Diag. Invest.* 3:368-373.
- Stabel J.R. 1998. Johnes disease a hidden treat. *J. Dairy Scien.* 81:283-288.
- Slana I., Liapi M., Moravkova M., Kralova A. & Pavlik I. 2009. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in cow bulk tank milk in Cyprus detected by culture and quantitative IS900 and F57 real-time PCR. *Prev. Vet. Med.* 89(3/4):223-226.
- Tripathi B.N., Sivakumar P., Paliwal O.P. & Singh N. 2006. Comparison of tissue PCR, bacterial culture, johnin and serological test in the diagnosis of naturally occurring paratuberculosis in goats. *Vet, Microbiol.* 116:129-137.
- Tripathi B.N., Sonawane G.G., Munjal S.K., Bind R.B., Gradinaru D., Dubey S.C., Mondal D., Paliwal O.P. & Singh N. 2007. Seroprevalence of paratuberculosis in selected population of ruminants in India, in: *Proceedings of 9th International Colloquium on paratuberculosis*, p.246-249.

CAPÍTULO II

Frequência de anticorpos para paratuberculose em bovinos no semiárido paraibano⁷

O Presente trabalho foi formatado segundo as normas da Revista Pesquisa Veterinária Brasileira, de acordo com que estabelece a norma n° 01/2008 de 2011 de julho de 2008, do programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural- Campus de Patos-PB.

PATOS-PB

2011

Frequência de anticorpos para paratuberculose em bovinos no semiárido paraibano⁸

João Marcos de Araújo Medeiros⁹, Felício Garino Junior², Rodrigo Antonio Torres Matos², Valeria Maria de Medeiros Costa² e Franklin Riet-Correa^{2*}.

ABSTRACT. - Medeiros J.M.A., Garino Jr F., Matos R.A.T., Costa V.M.M. & Riet-Correa F. 2012. [**Frequency of antibodies against paratuberculosis in cattle in the state of Paraíba.**] Frequência de anticorpos para paratuberculose em bovinos no estado da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira XX(X):XX-XX*. Hospital Veterinário, CSTR, Campus de Patos, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB 58700-000, Brasil. E-mail: franklin.riet@pq.cnpq.br

Paratuberculosis is an important disease of cattle in the state of Paraíba, northeastern Brazil. In the Veterinary Hospital of the Federal University of Campina Grande, five outbreaks of paratuberculosis were diagnosed in the last four years. The objective of this paper is to report the frequency of antibodies against paratuberculosis in different regions of the state of Paraíba, in farm with previous diagnosis of the disease and in farms without diagnosis. The prevalence of antibodies against paratuberculosis, examined by ELISA, in two farms with cases of the disease, was of 72.22% (13/18) and 68.75% (11/16), respectively. Serum samples from 486 healthy cattle from 36 farms without paratuberculosis diagnosis, from three different regions of Paraíba (sertão, cariri, and agreste), were also examined by ELISA. The frequency of antibodies was 10,08±1,07% (49/486). Antibodies against paratuberculosis were found in 21 (58.33%) out of 36 farms examined. These results suggest that paratuberculosis is an important disease of cattle in the state of Paraíba and that control measures to decrease the prevalence of the disease are necessary.

⁸ Enviado para publicação em...
Aceito em.....

⁹ Hospital Veterinário, CSTR, Campus de Patos, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB 58700-000, Brasil.* Autor para correspondência.

INDEX TERMS: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, paratuberculosis, cattle, ELISA, northeastern Brazil.

RESUMO.- A paratuberculose é uma doença importante em bovinos na Paraíba, tendo sido diagnosticados, pelo Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, cinco focos da doença nos últimos quatro anos. Neste trabalho objetivou-se realizar um estudo sorológico em rebanhos com e sem histórico da doença para estimar a frequência da infecção por Map em diferentes regiões do semiárido Paraibano. Utilizando o teste de ELISA pesquisou-se a frequência de animais soropositivos contra Map em duas fazendas onde tinha sido diagnosticada a doença, encontrando-se 72,22% (13/18) e 68,75% (11/16), respectivamente, de bovinos sorologicamente positivos. Amostras de soro de 486 bovinos de 36 fazendas sem histórico da doença, de diferentes regiões da Paraíba (sertão, cariri e agreste), também foram examinados por ELISA. A frequência de animais soropositivos foi de $10,08 \pm 1,07\%$ (49/486). Foram encontrados animais positivos em 21 (58.33%) das 36 fazendas estudadas. Os resultados sugerem que o agente da paratuberculose está disseminado em bovinos na Paraíba e que são necessárias medidas de controle para diminuir a frequência de casos clínicos e subclínicos da doença.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis*, paratuberculose, bovinos, ELISA, semiárido Brasileiro.

INTRODUÇÃO

A paratuberculose ou Doença de Johne é uma enfermidade infecciosa crônica, incurável e de distribuição mundial. Afeta bovinos, caprinos, ovinos, bubalinos e ruminantes selvagens, mas também acomete com menor frequência, suínos, lebres e eqüinos. O agente etiológico é o *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* que causa enterite e linfadenite granulomatosas (Clarke 1997, Harris & Barletta 2001, Riet-Correa & Driemeier 2007, Moravkova et al. 2008). É uma doença que acarreta consideráveis perdas econômicas. Nos EUA o prejuízo anual para indústria leiteira, devido à paratuberculose bovina, é da ordem de 200 a 250 milhões de dólares (Ott et al. 1999). Essas perdas devem-se a diminuição da produção, descarte prematuro dos animais, maior susceptibilidade a outras doenças, redução na fertilidade e aumento nos custos

sanitários (Losinger 2005). Além da importância da paratuberculose como causa de perdas econômicas em ruminantes, há indícios de que o *M. avium* subesp. *paratuberculosis* seja o agente casual da ileocolite granulomatosa em humanos conhecida como doença de Crohn (Chiodini & Rossiter 1996).

Em ruminantes, a infecção geralmente ocorre logo após o nascimento mediante ingestão de colostro ou leite de animais infectados e água e alimentos contaminados de fezes de animais infectados (Clarke & Little 1996). Há também transmissão pela via intra-uterina (Radostits et al. 2007). O diagnóstico laboratorial pode ser realizado pelo isolamento de *M. avium* subesp. *paratuberculosis* das fezes ou material de necropsia e por estudo histológico das lesões. Em esfregaços de fezes e de raspados das porções finais do intestino delgado corados pelo Ziehl-Neelsen observam-se bactérias álcool-ácido resistentes. O diagnóstico dos casos subclínicos pode ser realizado por isolamento do micro-organismo em fezes ou leite, provas sorológicas para detecção rápida de animais infectados (fixação de complemento, imunodifusão em agar gel e ELISA), detecção de gamma interferon, PCR ou testes alérgicos (Riet-Correa & Driemeier 2007).

Tanto o isolamento quanto o teste alérgico e as provas sorológicas são eficientes para determinar rebanhos infectados, mas não apresentam suficiente acurácia para o diagnóstico individual (Riet-Correa & Driemeier 2007). A tuberculinização é realizada com tuberculina produzida com *M. avium* subesp. *paratuberculosis* ou com *M. avium*. Ocorrem reações cruzadas com a tuberculose bovina, razão pela qual em rebanhos com esta doença deve-se realizar a prova comparativa (Riet-Correa & Driemeier 2007).

No Brasil há relatos da paratuberculose em bovinos em diversos Estados das regiões Sul e Sudeste (Portugal et al. 1979, Ramos et al. 1986, Driemeier et al. 1999, Gomes et al. 2002). Recentemente a doença foi diagnosticada, também, em bovinos (Mota et al. 2007, Motta et al. 2009) e bubalinos (Mota et al. 2010) na região nordeste do Brasil. Na Paraíba a paratuberculose foi diagnosticada em bovinos (Motta et al. 2009) e em ovinos e caprinos (Oliveira et al. 2010). Neste Estado, a doença tem sido observada frequentemente em bovinos, tendo sido diagnosticados, pelo Hospital Veterinário da UFCG, cinco focos de paratuberculose entre os anos de 2008 e 2011 (dados não publicados).

Objetivou-se com esta pesquisa realizar um estudo sorológico em rebanhos onde ocorreram casos da doença e em rebanhos sem histórico da doença para estimar a frequência da infecção por Map em diferentes regiões do semiárido paraibano.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo da frequência de anticorpos contra o Map foram coletadas amostras de soro de todos os bovinos (34) de duas fazendas com diagnóstico de paratuberculose, uma no município de São Momedes e outra no Município de Patos. Além disso, foram coletadas 486 amostras de 36 propriedades sendo quatro do Agreste, oito do Cariri e 24 do Sertão, totalizando 520 animais. O número de amostras dependeu da disponibilidade do produtor para a coleta, mas em todas as propriedades foi coletado sangue de, aproximadamente, 10% dos bovinos existentes. Para a determinação de anticorpos para paratuberculose nos animais das 38 propriedades foi utilizada a técnica de ELISA. Os animais estudados eram das raças Gir, Holandês, Girolando, e cruzas, assintomáticos com idade variando entre 4 meses a 13 anos. Foram coletados de cada animal 10 ml de sangue por venopunção da jugular externa através de agulhas acopladas a tubos a vácuo. As amostras de sangue foram centrifugadas a 1700 x g por 15 minutos e os soros transferidos para três tubos de eppendorf de 3ml, mantidos a -70° C, e posteriormente, testadas mediante o teste de ELISA adsorvido. Para a pesquisa de anticorpos Anti-*M. avium* subesp. *paratuberculosis* foi utilizado o kit comercial; ID SCREEN®, Paratuberculosis Indirect¹⁰. A leitura das amostras de soro foi realizada por uma Leitora de microplaca¹¹. Para a interpretação dos resultados dos animais positivos no teste de ELISA foi considerado um ponto de corte acima de 70% no teste.

As análises estatísticas foram realizadas por meio do teste de Qui-quadrado com correção de Yates e o nível de significância adotado foi de 5%. Os dados foram analisados estatisticamente utilizando o programa GRAPHPAD INSTAT versão 3.00 para Windows 95, GraphPad Software.

¹⁰ID Screen® Paratuberculosis Indirect – ID Vet Inovative Diagnostics –Montepelle-France

¹¹ Thermo Plate Tp – Reader®

RESULTADOS

Na fazendas A e B realizou-se estudo sorológico em todos os bovinos da propriedade e as frequências foram de 68,75% (11/16) e 72,22% (13/18), respectivamente.

Nas 36 fazendas sem histórico clínico de paratuberculose a frequência foi de $10,08 \pm 1,07\%$ (49/486) (Quadro 1). Não foram encontradas diferenças estatísticas entre as frequências observadas nas três regiões estudadas ($P > 0,05$). No Sertão a frequência foi de 10% (32/320) com intervalo de confiança de 6,94-13,82% no Agreste 11,11% (9/81) com intervalo de confiança de 5,21-20,05% e no Cariri foi de 9,41% (8/85) com intervalo de confiança de 4,15-17,71%. Os resultados da frequência em cada propriedade são apresentadas no Quadro 1.

Quadro1. Resultados dos testes de ELISA, para detecção de anticorpos contra o *M. avium subesp. paratuberculosis* em 486 amostras de Bovinos em 36 propriedades de 11 municípios do semiárido Paraibano

Fazenda/ município/ Região	Total	Testados	Positivos	%
1/Patos/sertão	65	8	5	62,5
2/Patos/sertão	17	17	0	0,0
3/Patos/sertão	25	10	0	0,0
4/Patos/sertão	44	22	0	0,0
5/Patos/sertão	22	10	2	20,0
6/Patos/sertão	50	9	0	0,0
7/Piancó/sertão	26	9	1	11,11
8/Piancó/sertão	15	7	1	14,29
9/Piancó/sertão	25	15	2	13,33
10/Piancó/sertão	28	9	1	11,11
11/Piancó/sertão	15	5	0	0,0
12/ Piancó/sertão	160	15	1	6,66
13/Piancó/sertão	180	15	2	13,33
14/ Piancó/sertão	20	9	0	0,0
15/ Piancó/sertão	57	15	1	6,66
16/ Piancó/sertão	8	5	0	0,0
17/Piancó/sertão	120	20	2	10
18/Nova Olinda/sertão	100	18	3	16,66
19/Santa Terezinha/sertão	45	19	8	42,10
20/São J. Espinharas/sertão	100	24	1	4,16
21/São J. Bonfim/sertão	18	18	1	5,55
22/Santa Gertrudes/sertão	80	10	1	10,0
23/São Gonçalo/sertão	84	16	0	0
24/São Gonçalo/sertão	25	15	0	0
25/Bananeiras/agreste	28	11	0	0,0
26/Bananeiras/agreste	30	25	1	4,0
27/Bananeiras/agreste	58	15	1	6,66
28/Campina Grande/agreste	105	30	7	23,33
29/Boa Vista/cariri	100	14	0	0,0
30/Boa Vista/cariri	120	19	2	10,52
31/Boa Vista/cariri	30	9	0	0,0
32/Boa Vista/cariri	25	5	1	20,00
33/Boa Vista/cariri	28	5	0	0,0
34/Boa Vista/cariri	52	5	0	0,0
35/Boa Vista/cariri	50	14	4	28,57
36/Cabaceiras/cariri	80	14	1	7,14
TOTAL	2035	486	49	10,08

DISCUSSÃO

O diagnóstico da enfermidade em diversas fazendas da Paraíba, a alta frequência de anticorpos (70,6%) em duas fazendas onde ocorreram casos clínicos de paratuberculose, e a presença de anticorpos em 21 de 36 fazendas sem histórico da doença, que apresentaram uma frequência média de 10,08%, sugere que o Map está disseminado nas três regiões estudadas do estado da Paraíba. Em outros países a prevalência de anticorpos é variável; nos Estados Unidos e Canadá varia de 4,73% a 18% (Pence et al 2003, Sorensen et al. 2003, Paolicchi 2004), na Austrália de 9% a 22% e na Argentina, na província de Buenos Aires, de 7,2% a 19,6% (Paolicchi 2004). Nos Estados Unidos estima-se que a paratuberculose ocasiona perdas anuais de 1500 milhões de dólares e que a indústria leiteira perde de 200 a 250 milhões de dólares por ano (Stabel 1998, Paolicchi 2004). No Canadá as perdas econômicas são estimadas em 15 milhões de dólares por ano na indústria leiteira (Mckenna et al. 2006). Na Austrália estima-se que as perdas econômicas anuais são de 2,4 milhões de dólares, na Nova Zelândia 8,8 milhões de dólares/ano e na Holanda 42,5 milhões de dólares/ano (Kennedy & Benedictus 2001). No Brasil, em fazendas sem casos clínicos foram encontradas prevalências ainda maiores que as observadas na Paraíba, de 18% no Rio de Janeiro (Ferreira et al. 2001) e 39,8% no Rio Grande do Sul (Gomes 2002). Em Pernambuco em uma fazenda com casos clínicos de paratuberculose a prevalência de anticorpos foi de 32,8% (Mota et al. 2007).

Todos esses dados, avaliados no seu conjunto, sugerem que a paratuberculose é uma doença que causa perdas econômicas importantes na Paraíba e no Brasil. Em pequenos ruminantes, na Paraíba, foi encontrada uma alta frequência de anticorpos para paratuberculose, 48,3% em caprinos e 50,63% em ovinos (Medeiros et al. 2011). Os autores sugerem que a alta frequência deve-se ao confinamento ou semi-confinamento em condições higiênicas que favorecem a transmissão da enfermidade (Medeiros et al. 2011). É evidente a necessidade de realizar maiores investigações para verificar o impacto econômico da doença, os fatores de risco e as medidas de controle mais adequadas para as diferentes regiões.

Agradecimentos. - O primeiro autor agradece ao CNPq pela concessão da bolsa do Mestrado. Este trabalho foi financiado pelo CNPq, processo número 471783/2008-0.

REFERÊNCIAS

- Chiadini R.J. & Rossiter C.A. 1996. Paratuberculosis a Potencial Zoonosis, Vet. Clin. North Am., Food An. Pract. 12(2):457-467.
- Clarke C.J. & Little D. 1996. The pathology of ovine paratuberculosis: Gross and histological changes in the intestine and other tissues. J. Comp. Pathol. 114(4):419-437.
- Clarke C.J. 1997. The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species: A review. J. Comp. Pathol. 116(3):217-261.
- Driemeier D., Cruz C.E.F., Gomes M.J.P., Cordellini G.L., Loretti A.P & Colodel E.M. 1999. Aspectos clínicos e patológicos da paratuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras. 19(3/4):109-115.
- Ferreira R., Fonseca L.S. & Lilenbaum W. 2001. Detecção de Anticorpos contra o *Mycobacterium paratuberculosis* em rebanhos bovinos do estado do Rio de Janeiro, Brasil, Rev. Bras. Med. Vet. 23:166-171.
- Gomes M.J.P. 2002. Paratuberculose bovina: um grande desafio sanitário brasileiro. Minas de leite 3 (24):19-21.
- Harris N.B. & Barletta R.G. 2001. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in veterinary medicine. Clin. Microbiol. 14(3):489-512.
- Kennedy D.J. & Benedictus G. 2001. Control of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in agricultural species. Rev. Sci. Tech. Int. Epiz. 20(1):151-179.
- Losinger W.C. 2005. Economic impact of reduced milk production associated with Johne's disease on dairy operations in the USA. J. Dairy Res. 72(4):425-432.
- Mckenna S.L., Keefe G.P., Tiwari A., Vanleeuwen J. & Barkema H.W. 2006. Johne's disease in Canada part II: disease impacts, risk factors, and control programs for dairy producers. Can. Vet. J. 47(11):1089-1099.
- Medeiros J.M.A., Riet-Correa F., Garino Jr F., Almeida A.P. & Lucena E.A. 2011. Paratuberculose em caprinos e ovinos no estado da Paraíba. Pesq. Vet. Bras. Enviado para publicação.

- Moravkova M., Hlozek P., Beran V., Pavlik I., Preziuso S., Cuteri V. & Bartos M. 2008. Strategy for the detection and differentiation of *Mycobacterium avium* species in isolates and heavily infected tissues. *Res. Vet. Sci.* 85(2):257-264.
- 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. *Arqs Inst. Biol.* 74(2): 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(3): 237-242.
- 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 (9):703-706.
- 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 caprinos e ovinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 30(1):67-72.
- Ott S.L., Wells S.L. & Wagner B.A. 1999. Herd-level economic losses associated with Johne's disease on US dairy operations. *Prev. Vet. Med.* 40(3-4):179-192.
- Paolicchii F. 2004. Paratuberculosis: aspectos clínicos patológicos y su impacto em la producción. XXXII Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 127-131.
- Pence M., Baldwin C. & Carter Black III, C. 2003. The seroprevalence of Johne's disease in Georgia beef and dairy cull cattle, *J. Vet. Diagn. Invest.* 15:475-477.
- Portugal M.A.S.C., Pimentel J.N., Saliba A.M., Baldassi L. & Sandoval E.F.D. 1979. Ocorrência de paratuberculose no estado de Santa Catarina. *O Biológico, São Paulo*, 45:19-24.
- Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W. & Constable P.T. 2007. *Veterinary Medicine* 10th ed. Saunders, Elsevier, Edinburgh, p.1017-1044.
- Ramos E.T., Poster F.P., Correia B.L., De Oliveira S.J., Rodrigues N.C., & Canabarro C.E. 1986. Paratuberculose em bovinos no estado do Rio Grande do Sul. *A Hora Vet.* 6(34): 28-32.

- Riet-Correa F. & Driemeier D. 2007. Paratuberculose, p. 407-414. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), Doenças de Ruminantes e Eqüinos. Vol.1. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria, Rio Grande do Sul.
- Stabel J.R. 1998. Johnes disease a hidden treat. J. Dairy Scien. 81:283-288.
- Sorensen O., Rawluk S., Wu J., Manninen K. & Ollis G. 2003. *Mycobacterium paratuberculosis* in dairy herds in Alberta. Can Vet J. 44:221-226.