



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO-MOLECULAR DA INFECÇÃO POR *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) EM OVINOS E PERCEPÇÃO DOS MÉDICOS VETERINÁRIOS E PRODUTORES RURAIS SOBRE A PARATUBERCULOSE NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL**

**AMANDA DE NORONHA XAVIER**

**RECIFE, PE**

**2023**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO-MOLECULAR DA INFECÇÃO POR *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) EM OVINOS E PERCEPÇÃO DOS MÉDICOS VETERINÁRIOS E PRODUTORES RURAIS SOBRE A PARATUBERCULOSE NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL**

AMANDA DE NORONHA XAVIER

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Biociência Animal, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior  
Coorientador: Prof. Dr. Rodolfo de Moraes Peixoto

RECIFE, PE

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

X3e

Xavier, Amanda de Noronha  
ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO-MOLECULAR DA INFECÇÃO POR *Mycobacterium avium* subsp.  
paratuberculosis (Map) EM OVINOS E PERCEPÇÃO DOS MÉDICOS VETERINÁRIOS E PRODUTORES  
RURAIS SOBRE A PARATUBERCULOSE NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL / Amanda de Noronha  
Xavier. - 2023.  
135 f. : il.

Orientador: Jose Wilton Pinheiro Junior.  
Coorientador: Rodolfo de Moraes Peixoto.  
Inclui referências e apêndice(s).

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia Animal, Recife, 2023.

1. Paratuberculose. 2. Doença de Johne. 3. ovinocultura. 4. epidemiologia. 5. biossegurança. I. Junior,  
Jose Wilton Pinheiro, orient. II. Peixoto, Rodolfo de Moraes, coorient. III. Título

---

CDD 636.089

BANCA EXAMINADORA

**Estudo epidemiológico-molecular da infecção por *Mycobacterium avium*  
subsp. *paratuberculosis* (*Map*) em ovinos e percepção dos médicos  
veterinários e produtores rurais sobre a paratuberculose no estado de  
Pernambuco, Brasil**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutora em Biociência Animal, outorgado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, à disposição na Biblioteca Central dessa universidade. A transcrição ou utilização de trechos deste trabalho é permitida, desde que respeitadas as normas de ética científica.

---

Amanda de Noronha Xavier

Data da aprovação: 30/08/2023

---

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior (Orientador)  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Prof. Dr. Daniel Friguglietti Brandespim  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Dr. Alonso Pereira Silva Filho  
Universidade Federal de Alagoas

---

Dr. André de Souza Santos  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Karla Patrícia Chaves da Silva  
Universidade Federal de Alagoas

*À minha família, por serem os pilares da minha vida.*

*Com amor, dedico.*

## AGRADECIMENTOS

Gratidão a Deus por me conceder seus dons, derramar suas bênçãos em minha vida e ter me sustentado nos momentos de fraqueza. Deus Pai, Filho e Espírito Santo obrigada por seu imenso Amor por mim. Agradeço também a intercessão da minha Nossa Senhora Aparecida e de Santa Teresinha pelas infinitas graças por elas alcançadas.

À minha família, em especial, à minha mãe Márcia e à minha avó Nazinha por me inspirarem a ser melhor a cada dia e por terem lutado tanto por nossa família. Ao meu pai José Maria por todo carinho e cuidado, aos meus irmãos Lucas, Dani, Laura, Vitor e Vinícius, ao meu cunhado Welington e aos meus preciosos sobrinhos por serem partes preciosas da minha vida.

Agradeço muito ao meu orientador prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior por ser um exemplo de profissional e de pessoa pelo qual tenho um imenso respeito, admiração e carinho. Obrigada por cada ensinamento, pela paciência, dedicação, atenção e orientação que possibilitaram a realização dessa pesquisa e me ajudaram a me tornar a profissional que sou.

Minha gratidão ao prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota pela excelência profissional. Agradeço todo apoio, carinho e orientação ofertados por esse professor tão querido.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal (PGBA) e todo seu corpo docente, pela direção e a administração realizados com empenho e dedicação para que nós, pós-graduandos, possamos contar com um ensino de qualidade.

A todos que compõem o Laboratório de Doenças Infecciosas (LDIC) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e o Laboratório de Virologia Animal (LAVIAN) que foram minha casa durante esses anos e me abrigaram com tanto amor e companheirismo. Levarei cada componente em meu coração.

Em especial, agradeço a Gabriela, Tania, Pollyanne, Nazaré e Taizi pela amizade, diversão, carinho e amor estabelecidos desde que nos conhecemos. Meus sinceros agradecimentos a todos os profissionais, residentes, docentes, discentes e estagiários do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE (Sede).

Não poderia deixar de agradecer a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Érika Samico por sua amizade, alegria e conselhos de sempre; ao Dr. Pedro Paulo Albuquerque por ter me ajudado com os primers e controles da pesquisa e todo apoio com o meu experimento; ao Dr. Rodolfo Peixoto pela

coorientação e apoio durante o desenvolvimento da pesquisa. Agradeço a Serginho pelos ensinamentos, músicas compartilhadas e por sempre acreditar em mim.

Agradecimento especial a todos os membros da banca examinadora que possibilitaram tornar esse trabalho ainda melhor com suas sugestões e considerações.

Agradeço ao Laboratório de Doenças Bacterianas da Universidade Federal de Viçosa (UFV) pelo apoio e ajuda com meu experimento, em especial a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Aparecida, Junnia e Jéssica. Obrigada por serem prestativas e me auxiliarem em minha pesquisa.

Agradeço a FACEPE pela concessão da bolsa de doutorado.

Gratidão às minhas amigas de uma vida inteira Vivianne, Gisele e Girlaine (sem esquecer de Guigui) por estarem comigo e sempre me apoiarem. Obrigada por manterem nossa amizade-irmandade desde 2007. Agradeço a minha amiga Talita D'Paula pela confiança, carinho e amizade nesses longos anos. Agradeço a Maga (Maria Gabriela) e a Tania por tornar os dias em Recife mais leves e divertidos.

A todos os amigos e amigas que torceram por mim e a todos que fazem parte da Paróquia de Santa Teresinha do Menino Jesus em Garanhuns-PE, em especial aos meus irmãos do EJC e casais do ECC, principalmente minhas sementes da esperança. Meu carinho a todos os amigos e crismandos pertencentes a Capela de Nossa Senhora Aparecida por me entenderem e sempre me ajudarem, rezando por mim para que eu desenvolvesse minha missão e vocação da melhor maneira possível, mesmo não estando tão presente como gostaria.

A todos, muito obrigada!

*"É justo que muito custe, o que muito vale"*

*Santa Teresa D'Ávila*

## RESUMO

A paratuberculose é ocasionada pela bactéria *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*). A doença pode causar problemas de enterite crônica e afetar ruminantes, inclusive ovinos, em todo mundo, sendo também responsável por diversas perdas econômicas quando a infecção está presente no rebanho. Objetivou-se com esta pesquisa revisar sistematicamente e realizar meta-análise da prevalência geral da infecção por *Map* em ovinos, assim como um estudo epidemiológico-molecular da infecção em criações de ovinos e analisar a percepção dos médicos veterinários e produtores rurais sobre a doença no estado de Pernambuco, Brasil. Foram analisados 27 estudos após a seleção em seis bases de dados, pertencentes a 18 países e em cinco continentes. Após a meta-análise de modelo aleatório foi verificada prevalência geral de 8.79% (IC 95%, 4.89–13.66). Os valores de prevalência foram separados por região, sendo observado alta heterogeneidade ( $I^2 = 99\%$ ) e diferença significativa entre as regiões ( $p = 0.0319$ ). Para analisar possíveis vieses de publicação, o teste de Egger foi realizado e foi observado viés significativo ( $p = 0.0244$ ). Para o estudo epidemiológico-molecular foram coletadas 276 amostras de sangue e 261 amostras de fezes de ovinos assintomáticos procedentes de dez propriedades do estado de Pernambuco, Brasil. Posteriormente, as amostras de sangue foram submetidas a teste sorológico de Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA; IDEXX Paratuberculosis Screening®). As amostras de fezes foram processadas para o cultivo microbiológico e análise molecular pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Das 276 amostras de soro analisadas, 0,72% ( $n = 2/276$ ) foram positivas na pesquisa de anticorpos anti-*Map*. Ao exame microbiológico não foram observadas colônias sugestivas de *Map*, assim como todas as amostras foram negativas na PCR. Um questionário investigativo sobre paratuberculose e práticas de biossegurança foi aplicado a 84 médicos veterinários e 54 produtores rurais do estado de Pernambuco. Foram observadas diferenças significativas entre os grupos de médicos veterinários (MV) e produtores rurais (PR) em diferentes questões ( $p > 0.05$ ). Responderam sim ao conhecimento sobre paratuberculose em 97.62% (MV = 82/84) e 55.56% (PR = 30/54), enquanto os que responderam se já tiveram casos de paratuberculose foi 26.19% (MV = 22/84) e 11.11% (PR = 6/54) ( $p = 0.0013$ ). Sobre práticas de biossegurança 1.19% ( $n = 1/84$ ) dos médicos veterinários e 44.44% ( $n = 24/54$ ) dos produtores rurais desconheciam o termo e foi observada diferença

significativa entre as práticas de biossegurança realizadas por MV e PR como a separação de animais doentes no rebanho ( $p < 0.0001$ ). Os resultados da pesquisa sugerem que há exposição ao *Map* nos rebanhos de ovinos no estado de Pernambuco, Brasil. Apesar da baixa prevalência, os resultados são importantes do ponto de vista epidemiológico da doença. Dessa forma, se faz necessário um monitoramento periódico nos rebanhos ovinos por se tratar de doença de caráter crônico e assintomático, que pode causar sérios prejuízos aos produtores rurais e que está distribuída em várias regiões do mundo como observado através da prevalência geral da revisão sistemática. Em relação à análise de percepção, pode-se concluir que no grupo de médicos veterinários que existem lacunas sobre o conhecimento em relação à paratuberculose e práticas de biossegurança e constatou-se que os produtores rurais desconhecem a doença. Dessa forma, se faz necessária a adoção de políticas educativas para produtores rurais para que os mesmos conheçam essas informações.

**Palavras-chave:** Paratuberculose, Doença de Johne, ovinocultura, epidemiologia, questionários, biossegurança.

## ABSTRACT

Paratuberculosis is caused by the bacterium *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*). The disease can cause chronic enteritis problems and affect ruminants, including sheep, worldwide, and is also responsible for several economic losses when the infection is present in the herd. The aim of this research was to systematically review and perform a meta-analysis of the general prevalence of *Map* infection in sheep, as well as an epidemiological-molecular study of infection in sheep farms and to analyze the perception of veterinarians and rural producers about the disease in the state of Pernambuco, Brazil. We analyzed 27 studies after selection in six databases, belonging to 18 countries and on five continents. After the random model meta-analysis, an overall prevalence of 8.79% (95% CI, 4.89–13.66) was verified. The prevalence values were separated by region, with high heterogeneity ( $I^2 = 99\%$ ) and significant differences between regions ( $p = 0.0319$ ). The Egger's test was performed to analyze possible publication biases and significant bias was observed ( $p = 0.0244$ ). For the epidemiological-molecular study, 276 blood samples and 261 fecal samples were collected from asymptomatic sheep from ten farms in the state of Pernambuco, Brazil. Subsequently, the blood samples were submitted to the serological test of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA; IDEXX Paratuberculosis Screening®). The fecal samples were processed for microbiological culture and molecular analysis by Polymerase Chain Reaction (PCR). Of the 276 serum samples analyzed, 0.72% ( $n = 2/276$ ) were positive for anti-*Map* antibodies. At the microbiological examination, no colonies suggestive of *Map* were observed, as well as all samples were negative in PCR. An investigative questionnaire on paratuberculosis and biosecurity practices was applied to 84 veterinarians and 54 rural producers in the state of Pernambuco. Significant differences were observed between the groups of veterinarians (VE) and rural producers (RP) in different questions ( $p > 0.05$ ). 97.62% (VE = 82/84) and 55.56% (RP = 30/54) answered yes to knowledge about paratuberculosis, while those who answered whether they had ever had cases of paratuberculosis were 26.19% (VE = 22/84) and 11.11% (RP = 6/54) ( $p = 0.0013$ ). Regarding biosecurity practices, 1.19% ( $n = 1/84$ ) of veterinarians and 44.44% ( $n = 24/54$ ) of rural producers were unaware of the term, and a significant difference was observed between the biosecurity practices performed by VE and RP, such as the separation of sick animals in the herd ( $p < 0.0001$ ). The results of the research suggest

that there is exposure to *Map* in sheep herds in the state of Pernambuco, Brazil. Despite the low prevalence, the results are important from the epidemiological point of view of the disease. Thus, periodic monitoring of sheep herds is necessary because it is a chronic and asymptomatic disease that can cause serious damage to rural producers and is distributed in several regions of the world as observed through the general prevalence of the systematic review. Regarding the perception analysis, it can be concluded that in the group of veterinarians, there are quite gaps in knowledge regarding paratuberculosis and biosecurity practices and it was found that rural producers are unaware of the disease. Thus, the adoption of educational policies for rural producers is a way to improve the reach of this group to this information.

**Keywords:** Paratuberculosis, Johne's disease, sheep farming, epidemiology, questionnaire, biosecurity.

## SUMÁRIO

<b>1. QUALIFICAÇÃO DO PROBLEMA</b> .....	18
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	20
<b>2.1. Paratuberculose em ovinos</b> .....	20
2.1.1. Impactos Econômicos .....	20
2.1.2. Etiologia .....	21
2.1.3. Epidemiologia .....	23
2.1.4. Patogenia .....	27
2.1.5. Sinais Clínicos .....	28
2.1.6. Diagnóstico .....	29
2.1.7. Prevenção e Controle .....	33
2.1.8. Educação em Saúde.....	35
2.1.9. Paratuberculose na Saúde Pública .....	36
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	38
<b>3.1. Geral</b> .....	38
<b>3.2. Específicos</b> .....	38
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	39
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	49
Artigo 1: Primeiro diagnóstico sorológico da infecção por <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> em ovinos no estado de Pernambuco, Brasil.....	49
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	69
Artigo 2: Prevalência global da infecção por <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> ( <i>Map</i> ) em ovinos: Revisão sistemática e Meta-análise.....	69
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	94
Artigo 3: Análise da percepção dos médicos veterinários e produtores rurais sobre a paratuberculose e práticas de biossegurança no estado de Pernambuco, Brasil.....	94
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	121
<b>5.1. Perspectivas</b> .....	122
<b>Apêndice</b> .....	123
<b>Prevenindo a paratuberculose: Práticas de biossegurança em ruminantes (Cartilha)</b> .....	123

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

Figura 1: Distribuição dos locais de coleta de amostras biológicas no estado de Pernambuco, Brasil.....54

### CAPÍTULO 2

Figura 1. Fluxograma PRISMA da seleção das publicações referentes a prevalência geral da infecção por *Map* em ovinos durante o período de 2000 a 2023.....77

Figura 2. Gráfico floresta com a visualização da meta-análise comparando a prevalência de *Map* em ovinos entre os 27 estudos analisados. O ponto preto é a estimativa e a linha horizontal dentro dos quadrados é o IC de 95% para prevalência em cada estudo. As colunas são divididas em região (país e continente), número de animais positivos, número de animais amostrados, a prevalência (%), IC de 95%, o peso do estudo, a prevalência no formato floresta e autores. O diamante negro situado na parte inferior de cada subgrupo indica a prevalência média estimada de *Map* em ovinos por região.....80

Figura 3. Gráfico floresta com a visualização da meta-análise comparando a prevalência de *Map* em ovinos de acordo com o tipo de método de diagnóstico realizado nos 27 estudos analisados. O ponto preto é a estimativa e a linha horizontal dentro dos quadrados é o IC de 95% para prevalência em cada estudo. As colunas são divididas pelo método de diagnóstico (ELISA, PCR, Cultura Fecal, IDGA, FC), número de animais positivos, número de animais amostrados, a prevalência (%), IC de 95%, o peso do estudo, a prevalência no formato floresta e autores. O diamante negro indica a prevalência média estimada de *Map* em ovinos e está situado na parte inferior de cada subgrupo de região.....81

Figura 4. Gráfico de meta-regressão do ano de publicação dos estudos que contém dados de prevalência de *Map* em ovinos. Os círculos simbolizam os estudos

analisados, o eixo x indica o ano de publicação dos estudos e o eixo y a porcentagem das prevalências ( $n=27$  estudos,  $p = 0.2122$ ). .....82

Figura 5. Gráfico funil que avalia a razão de chances de prevalência da infecção por Map em ovinos com IC de 95% que foi transformado usando o método Freeman-Tukey double arcsine para estabilizar as diferenças de variância no eixo x em relação ao erro padrão no eixo y da quantidade total de amostras dos 27 estudos analisados. Estudos individuais são representados pelos pequenos círculos cinzas. As linhas externas tracejadas em formato triangular indicam o IC de 95% dos estudos, e a linha vertical central indica o efeito geral. O grau de assimetria foi  $p < 0,05$  (teste de Egger), indicando que há evidência de viés de publicação significativo.....82

### CAPÍTULO 3

Figura 1: Distribuição das frequências relativas quanto à espécie animal de trabalho de 84 médicos veterinários e 54 produtores rurais do estado de Pernambuco, Brasil sobre paratuberculose e biosseguridade.....100

Figura 2: Distribuição em escala *Likert* de questões relacionadas a práticas de biosseguridade para médicos veterinários ( $n=84$ ) do estado de Pernambuco.....110

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

Tabela 1: Distribuição das propriedades e dos resultados da análise sorológica para pesquisa de anticorpos anti-*Map* procedentes de ovinos no estado de Pernambuco, Brasil.....57

### CAPÍTULO 2

Tabela 1: Dados extraídos de todos os estudos incluídos na revisão sistemática e meta-análise sobre a prevalência da infecção por *Map* em ovinos.....78

### CAPÍTULO 3

Tabela 1: Relação quanto ao gênero e tempo de atividade laboral de 84 médicos veterinários e 54 produtores rurais do estado de Pernambuco sobre o questionário investigativo sobre paratuberculose e biossegurança.....100

Tabela 2: Distribuição das perguntas relacionadas a “conhecimento sobre paratuberculose” de médicos veterinários ( $n=84$ ) e produtores rurais ( $n=54$ ) do estado de Pernambuco, Brasil. ....104

Tabela 3: Distribuição dos dados sobre as “características de paratuberculose” de médicos veterinários e produtores rurais do estado de Pernambuco que tiveram casos positivos da doença ( $n=28$ ) .....105

Tabela 4: Distribuição dos dados referentes ao conhecimento sobre biossegurança de médicos veterinários e produtores rurais do estado de Pernambuco, Brasil.....108

Tabela 5: Frequências relativas e absolutas das perguntas relacionadas aos tipos de medidas de biossegurança realizadas por médicos veterinários ( $n=84$ ) e produtores rurais ( $n=54$ ) do estado de Pernambuco, Brasil.....109

## LISTA DE QUADROS

### REVISÃO DE LITERATURA

Quadro 1: Histórico de paratuberculose em pequenos ruminantes no Brasil.....26

### CAPÍTULO 2

Quadro 1: Bases de dados e os descritores utilizados para a realização da revisão sistemática sobre a prevalência geral de paratuberculose em ovinos.....72

## ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E DEFINIÇÕES

% - Porcentagem

® - Registro

BAAR – Bacilo Álcool-Ácido Resistente

BASE - Bielefeld Academic Search Engine

BVS – Biblioteca Virtual de Saúde

Chi<sup>2</sup> – Teste qui-quadrado

DG – Problema Digestivo

DM – Problema Dermatológico

DNA - Ácido desoxirribonucleico

ELISA - Ensaio de Imunoabsorção Enzimática

EUA – Estados Unidos da América

FC – Fixação de Complemento

I<sup>2</sup> – Heterogeneidade

IDGA - Imunodifusão em Gel de Ágar

IC – Intervalo de Confiança

IFN-γ - Interferon-Gama

IgG - Imunoglobulina G

IHQ - Imunohistoquímica

LDIC - Laboratório de Doenças Infectocontagiosas

*Map* – *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

MV – Médicos Veterinários

NR – Problema Neurológico

nm – Nanômetro

°C - Graus Celsius

OD - Densidade óptica

OR – *Odds Ratio*

WOAH - Organização Mundial de Saúde Animal

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

PR – Produtor Rural

PRISMA - Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses

PRESS - Peer Review of Electronic Search Strategies

qPCR - Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real

RP – Problema Respiratório

spp. – Espécies

subsp. - Subespécie

UFRPE - Universidade Federal Rural de Pernambuco

ZN - Ziehl-Neelsen

µm – Micrômetro

## 1. QUALIFICAÇÃO DO PROBLEMA

A ovinocultura é uma atividade que gera desenvolvimento social e econômico no Brasil, especialmente na região Nordeste, onde são criados aproximadamente 69,92% de um total de 20.537.474 ovinos do país. O estado de Pernambuco é o segundo maior produtor de ovinos do país com 3.435.530 animais (Brasil, 2021). Providos de uma rusticidade natural, esses animais foram um dos primeiros domesticados e criados no mundo, pois fornecem matéria-prima para consumo através da produção de carne, leite e lã (Armstrong, 2016). Entretanto, apesar dos ovinos serem animais bastante resistentes, a ocorrência de doenças infecciosas pode ocasionar diversos prejuízos econômicos para o produtor rural (De Aquino *et al.*, 2016).

Na região Nordeste, há baixa adesão dos criadores às medidas de biossegurança, o que pode influenciar a entrada e permanência de patógenos dentro do rebanho, responsáveis por causar doenças infecciosas e conseqüentemente prejuízos econômicos para os produtores (Brasil, 2017; Riet-Correa; Simões; Azevedo, 2011).

Nesse contexto, tem-se a Paratuberculose ou Doença de Johne, uma infecção crônica que apresenta distribuição mundial, considerada uma doença de importância socioeconômica, cujos métodos preventivos e de controle são essenciais para o comércio internacional de animais e alimentos de origem animal (WOAH, 2021). É considerada uma doença bacteriana causada por Bacilo Álcool-Ácido Resistente (BAAR) *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) (Chaubey *et al.*, 2017; WOAH, 2021), que acomete ruminantes, incluindo ovinos, e pode causar o aparecimento de sinais clínicos como emagrecimento progressivo, falta de apetite e diminuição da conversão alimentar e produção de leite (Eslami *et al.*, 2019; Todd, 2014).

Há estudos que indicam que *Map* é um dos agentes causadores da Doença de Crohn em humanos, já que foi detectada a presença desse agente em amostras biológicas de seres humanos que apresentavam a doença (Davis; Kuenstner; Singh, 2017; Eslami *et al.*, 2019). Além disso, também foi descrito que *Map* não é inativado durante a pasteurização, podendo ser encontrado em amostras de leite e produtos lácteos, além de produtos cárneos contaminados, demonstrando um possível potencial zoonótico (Chaubey *et al.*, 2017).

Em países como Estados Unidos da América (EUA) (Pillars *et al.*, 2009), Austrália (Shephard; Williams; Beckett, 2016), Canadá (Tiwari *et al.*, 2009), França (Dufour; Pouillot; Durand, 2004) e Reino Unido (Stott *et al.*, 2005) já foram relatadas perdas econômicas graves ocasionadas pela redução da produção de leite em bovinos leiteiros. Nos Estados Unidos, as perdas anuais em um rebanho infectado por *Map* chegaram em torno de 200 milhões de dólares (Whittington *et al.*, 2019). Em ovinos, foram descritas perdas econômicas decorrentes da mortalidade na Austrália (Bush; Windsor; Toribio, 2006; Mcgregor; Abbott; Whittington, 2015) e na Nova Zelândia (Gautam *et al.*, 2018). Na Itália, a infecção por *Map* em caprinos e ovinos ocasionou redução de lucro nas fazendas analisadas (Sardaro *et al.*, 2017).

Com um risco zoonótico e gerador de perdas econômicas na propriedade, o agente causador da paratuberculose pode ser evitado por meio de medidas de biossegurança que podem minimizar os danos e evitar a infecção dos animais e contaminação do meio ambiente por agentes patogênicos como *Map*. Essas medidas visam um manejo e higiene de qualidade, garantindo saúde para os animais (Benjamin *et al.*, 2010; Idris, *et al.*, 2021; Jordan *et al.*, 2020).

Neste contexto, o conhecimento sobre biossegurança destinado a produtores rurais e médicos veterinários é essencial para prevenir, controlar ou mesmo erradicar doenças, principalmente aquelas de caráter infeccioso, e dessa forma aumentar a produtividade do rebanho (Benjamin *et al.*, 2010). Porém, no Brasil, estudos relacionados à percepção dos produtores rurais sobre medidas de biossegurança diretamente relacionada a não ocorrência de doenças infecciosas como a paratuberculose ainda são escassos.

Tendo em vista a importância da ovinocultura e as perdas econômicas relacionadas à paratuberculose na espécie ovina, bem como os impactos ocasionados pela limitação ou ineficientes práticas de manejo e controle dessa enfermidade, objetivou-se com esta pesquisa realizar um estudo epidemiológico-molecular da infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em ovinos procedentes do estado de Pernambuco, Brasil e realizar uma análise sobre a percepção de médicos veterinários e produtores rurais do estado sobre paratuberculose e práticas de biossegurança.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Paratuberculose em ovinos

#### 2.1.1. Impactos Econômicos

A paratuberculose pode gerar diversos prejuízos econômicos em rebanhos afetados pela infecção, todavia o impacto econômico depende da quantidade de animais infectados, estágio da infecção e presença de sinais clínicos, além dos fatores de risco relacionados à doença em rebanhos de ruminantes (Garcia; Shalloo, 2015).

Perdas econômicas relacionadas à paratuberculose em ruminantes têm sido relatadas em alguns países como Estados Unidos (Pillars *et al.*, 2009), Austrália (Shephard; Williams; Beckett, 2016), Canadá (Tiwari *et al.*, 2009), França (Dufour; Pouillot; Durand, 2004) e Reino Unido (Stott *et al.*, 2005) onde foram estimadas médias anuais de custo de bovinos leiteiros. Nos Estados Unidos os custos podem chegar a US\$ 200 milhões, enquanto há estimativa de gasto de US\$ 80 milhões na China, US\$ 75 milhões na Alemanha, US\$ 56 milhões na França e US\$ 28 milhões no Canadá (Rasmussen *et al.*, 2021). Na Austrália, os prejuízos relacionados à doença em bovinos infectados são estimados em US\$ 1700 por animal por ano (Shephard; Williams; Beckett, 2016).

Rasmussen *et al.* (2021) realizaram um estudo sobre as perdas econômicas em bovinos leiteiros de rebanhos com prevalência de paratuberculose e estimaram a média anual de perda por vaca de US\$ 33, sendo o descarte prematuro e a redução da produção de leite e carne as maiores causas dos prejuízos observados. No estudo também foi realizada uma estimativa das perdas no Brasil com bovinos com paratuberculose e observaram custos anuais individuais e por rebanho de US\$ 8,31 e US\$ 71,07, respectivamente.

Em relação a perdas econômicas relacionadas à paratuberculose ovina, já foram descritos impactos econômicos com redução de lucratividade na Austrália (Bush; Windsor; Toribio, 2006; Mcgregor; Abbott; Whittington, 2015), Nova Zelândia (Gautam *et al.*, 2018) e Itália (Sardaro *et al.*, 2017). Frequentemente, a redução de lucros ocorre devido à perda excessiva de peso, abate precoce, alta mortalidade e baixa fertilidade dos ovinos infectados. Todas essas perdas somadas dentro de um

rebanho ovino na Austrália podem chegar a até 20% de custos ao ano, especialmente quando relacionadas a taxas de reposição dos animais (Windsor, 2015, 2014). Na Itália a redução da eficiência dos lucros na ovinocultura está diretamente ligada à infecção por *Map* (Sardaro *et al.*, 2017).

Além do mais, a mortalidade dos ovinos tem sido a causa mais frequente da redução da renda por rebanho na espécie, com média variando entre 1 a 10% (Whittington *et al.*, 2019; Windsor, 2015). Na Austrália, a taxa de mortalidade anual com a doença pode variar entre 6% (Bush; Windsor; Toribio, 2006) a 20% por rebanho (Windsor, 2014), enquanto na Nova Zelândia, essa taxa é de 1,2% a 2,7% com perdas em torno de US\$ 1,5 por ovelha infectada ao ano (Whittington *et al.*, 2019).

Os gastos na propriedade com os animais infectados também podem ser atribuídos à manutenção do rebanho, serviços veterinários, testes de diagnóstico e vacinação, nos locais onde é disponível (Garcia; Shalloo, 2015; Rasmussen *et al.*, 2021). Estima-se que no Reino Unido os prejuízos causados em libras esterlinas pela paratuberculose ovina chegaram entre 0,5 a 16,5 milhões (Ashworth; Gunn, 2001).

### 2.1.2. Etiologia

O agente etiológico responsável por causar a paratuberculose é a micobactéria, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*), um Bacilo Álcool-Ácido Resistente (BAAR). Pertencente à família *Mycobacteriaceae*, é uma bactéria imóvel, aeróbica, medindo aproximadamente 0,5µm a 1–2µm (Timms *et al.*, 2011; Whittington *et al.*, 2019). *Map* é um patógeno intracelular obrigatório e infecta macrófagos, neutralizando a produção de compostos químicos antimicrobianos e também sendo responsável por modular a resposta imune do hospedeiro (Todd, 2014).

*Map* é dependente de micobactina, esse complexo é responsável pela captação de ferro que mantém a sobrevivência e virulência do microrganismo e como não é produzido pela bactéria, é necessário que a aquisição seja feita através do hospedeiro. Por isso, para o crescimento bacteriano os meios devem ser enriquecidos com micobactina, entretanto, mesmo com essa presença, *Map* apresenta crescimento lento (>16 semanas) em meio de cultura específico, devido a resistência da parede celular (Timms *et al.*, 2011; Todd, 2014).

A parede celular dessa micobactéria também aumenta sua patogenicidade e sobrevivência dentro e fora do hospedeiro (Sechi; Dow, 2015). No meio ambiente, principalmente em solo, água e estrume a micobactéria pode sobreviver por longos períodos de tempo, principalmente se estiver sob a sombra, devido à capacidade de formar uma parede celular resistente de lipídios e polissacarídeos pela presença de ácido micólico em sua composição (Timms *et al.*, 2011; Todd, 2014). A bactéria é termotolerante fazendo com que resista ao processo de pasteurização e altas temperaturas, além de resistir a processos como ressecamento, liofilização, uso de antimicrobianos, cloração da água e altas concentrações de sal, porém sua sobrevivência diminui quando expostas ao sol (Botsaris *et al.*, 2016; Chaubey *et al.*, 2017; Timms *et al.*, 2011). Apesar de ser considerada uma bactéria não formadora de esporos (Ssekitoleko *et al.*, 2021; Timms *et al.*, 2011), já foi relatada a capacidade de formação de um tipo de esporo em uma determinada cepa de *Map* como mecanismo de sobrevivência à escassez de nutrientes (Lamont *et al.*, 2012).

Sabe-se que há cepas diferentes de *Map*: “S” (*Sheep*) ou Tipo I e “C” (*Cattle*) ou Tipo II e possuem essa nomenclatura de acordo com a espécie na qual foi identificada pela primeira vez (Mizzi *et al.*, 2021). A cepa “S” (*Sheep*) ou Tipo I possui duas sublinhagens diferentes, Tipo I e Tipo III, enquanto a cepa “C” (*Cattle*) ou Tipo II é subcategorizada em Tipo “C” e Tipo “B” (*Bison*) (Bryant *et al.*, 2016; Elsohaby *et al.*, 2021).

O Tipo “C” é comumente encontrado em bovinos, no entanto, pode ser isolado em qualquer espécie de ruminante (Conde *et al.*, 2021; Stevenson *et al.*, 2009), não ruminantes (Elsohaby *et al.*, 2021; Hutchings *et al.*, 2010) e também já foi isolado em pacientes portadores da Doença de Crohn (Stevenson, 2015). Enquanto o tipo “S” predomina em ovinos e caprinos (Bauman *et al.*, 2016), mas também pode ser encontrada em outras espécies de ruminantes (Conde *et al.*, 2021; Stevenson, 2015). A cepa tipo “B” foi inicialmente isolada em bisões e descrita como tipo “C”, contudo análises moleculares permitiram diferenciá-la em tipo “B”, podendo também ser encontrada em outros ruminantes (Bryant *et al.*, 2016).

Em uma análise sistemática sobre os tipos de cepas de paratuberculose mais frequentes em ruminantes na América Latina e Caribe, foi observado somente cepas do tipo “C” (Correa-Valencia *et al.*, 2021). Souza *et al.* (2016) realizaram uma

tipificação molecular de isolados de *Map* em caprinos em Minas Gerais e observaram que todos também eram do tipo “C”.

### 2.1.3. Epidemiologia

A doença de Johne como também é conhecida a paratuberculose, apresenta distribuição mundial e é considerada uma doença de notificação obrigatória a Organização Mundial da Saúde Animal (WOAH, 2021). A primeira notificação da doença ocorreu na Alemanha no ano de 1895 por Johne e Frothingham, em que identificaram o agente etiológico *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) em bovinos acometidos com uma enterite crônica (Yamasaki *et al.* 2013). Desde então, vários registros de paratuberculose têm sido relatados mundialmente em diversas espécies de ruminantes domésticos como caprinos (Schwarz *et al.*, 2017), ovinos (Coelho *et al.*, 2010), bovinos (Pourmahdi Borujeni *et al.*, 2021), bubalinos (Mota *et al.*, 2010), camelos (Alharbi *et al.*, 2012), lhamas e alpacas (Miller *et al.*, 2000), guanacos (Corti *et al.*, 2022), animais silvestres/selvagens (Roller *et al.*, 2020) e ocasionalmente em não ruminantes como coelhos e lebres (Salgado *et al.*, 2011).

Estudos sorológicos com a utilização do ELISA sobre a doença em pequenos ruminantes foram desenvolvidos em vários países, com a ocorrência de casos de ovinos infectados por *Map* na Espanha (Mainar-Jaime; Vázquez-Boland, 1998), África do Sul (Michel; Bastianello, 2000), Portugal (Coelho *et al.*, 2010), Chipre (Liapi *et al.*, 2011), Itália (Attili *et al.*, 2011), Alemanha (Stau *et al.*, 2012), Índias Ocidentais (Kumthekar *et al.*, 2013), Sérvia (Vidic *et al.*, 2014), México (Morales-Pablos *et al.*, 2020; Ponce Barraza *et al.*, 2017), Uruguai (Giannitti *et al.*, 2018), Tunísia (Khamassi Khbou *et al.*, 2020), Egito (Selim; Abdelhady; Abdelrahman, 2021), Colômbia (Hernández-Agudelo *et al.*, 2021) e Irã (Pourmahdi Borujeni *et al.*, 2021). A identificação do agente em fezes por técnicas moleculares como a PCR na espécie foi descrita na Austrália (Plain *et al.*, 2014), Itália (Galiero *et al.*, 2015), Canadá (Bauman *et al.* 2017), Uruguai (Giannitti *et al.*, 2018), Arábia Saudita (Elsohaby *et al.*, 2021), Colômbia (Hernández-Agudelo *et al.*, 2021) e China (Zhao *et al.*, 2021). Além da identificação de *Map* em amostras de leite de ovinos na Itália (Hosseini-porgham *et al.*, 2020).

No Brasil, os estudos sobre a paratuberculose em pequenos ruminantes ainda são limitados com alguns relatos ocorridos no país descritos no quadro 1. No estado de Pernambuco foram realizadas pesquisas com a espécie bovina (Mota *et al.*, 2007; Sá *et al.*, 2013), bubalina (Mota *et al.*, 2010) e em amostras de leite e queijo de bovinos (Albuquerque *et al.*, 2017, Albuquerque *et al.*, 2019).

A exposição fecal-oral é a principal forma de transmissão do agente, para que isso aconteça é necessário que os ovinos suscetíveis sejam expostos à contaminação ambiental com fezes de animais infectados (Windsor, 2015; Windsor; Whittington, 2020). Dessa forma, a principal via de transmissão ocorre quando animais jovens ao consumirem leite e/ou colostro entram em contato com o úbere e este pode estar contaminado com fezes contendo *Map*. A transmissão do agente etiológico em ovinos adultos é menos frequente, porém, a presença de fezes em água e alimentos pode contribuir para a transmissão de *Map* nesses animais (Espescht *et al.*, 2018; Windsor, 2015).

A ingestão de colostro ou leite contaminado é uma outra via para infecção por *Map*, já que há registros da ocorrência da micobactéria em leite e colostro de caprinos (Nebbia *et al.*, 2006) e ovinos (Hosseiniporgham *et al.*, 2020; Lambeth *et al.*, 2004). A infecção vertical também é descrita, embora não se tenha certeza sobre se os fetos são infectados via uterina ou após o nascimento (Lambeth *et al.*, 2004; Windsor, 2014).

Alguns fatores de risco podem contribuir para a ocorrência da infecção por *Map*, destacando-se a aglomeração e confinamento dos ovinos, principalmente em criações intensivas, pois favorecem a contaminação ambiental através da eliminação das fezes de ovinos infectados (Coelho *et al.*, 2010; Windsor; Whittington, 2020). Entretanto, outros fatores como a imunidade, idade, carga bacteriana infectante e criação consorciada com outras espécies como bovinos, por exemplo, também são importantes (Coelho *et al.*, 2010; Idris *et al.*, 2021; Whittington *et al.*, 2019). Entre rebanhos, a aquisição de animais com infecção subclínica tem sido apontada como um dos principais fatores de risco para a transmissão do agente (Rangel *et al.*, 2015; Whittington *et al.*, 2019).

Comparando as espécies de ruminantes, acredita-se que os ovinos são mais resistentes a infecção por *Map*, desenvolvendo menos sinais clínicos e excretando menor quantidade de microrganismos nas fezes quando comparados aos bovinos e

caprinos infectados (Idris *et al.*, 2021; Stewart *et al.*, 2007; Timms *et al.*, 2011). Também pode ser observada variação na suscetibilidade de infecção ao agente entre raças de ovinos (Begg *et al.*, 2017).

**Quadro 1:** Histórico de paratuberculose em pequenos ruminantes no Brasil.

<b>Autor</b>	<b>Ano</b>	<b>Espécie</b>	<b>Método de diagnóstico</b>	<b>Prevalência/Ocorrência</b>	<b>Obs.:</b>
Silva	1968	Ovino	Teste intradérmico com jonina.	Infecção experimental	Não há informação sobre o estado
Poester; Ramos	1994	Caprino	Teste intradérmico com jonina, achados de necropsia e histopatológico	Infecção experimental	Rio Grande do Sul
Jacinto <i>et al.</i>	2009	Caprino	Achados de necropsia e histopatológico	Um animal infectado	São Paulo
Oliveira <i>et al.</i>	2010	Caprino e ovino	Análise histopatológica, Teste de tuberculinização	Lesões sugestivas e teste de tuberculinização positivo	Animais de dois rebanhos da Paraíba
Medeiros <i>et al.</i>	2012	Caprino e ovino	ELISA, ZN e isolamento bacteriano	44,96% (330/734 caprinos) 52,96% (207/392 ovinos)	Animais de 46 propriedades no estado da Paraíba
Freitas <i>et al.</i>	2015	Caprino	ELISA	0,82% (6/727)	Caprinos de 86 propriedades do estado da Paraíba
Souza <i>et al.</i>	2016	Caprino	Isolamento bacteriano e PCR	2,36% (11/467)	Caprinos com cepas tipo “C” em Minas Gerais
Schwarz <i>et al.</i>	2017	Caprino	ELISA, isolamento bacteriano, PCR, achados de necropsia e histopatológico	Sem identificação de animais positivos	Fenômeno de excreção passiva no estado de Minas Gerais

#### 2.1.4. Patogenia

Assim que as micobactérias alcançam o trato intestinal do hospedeiro através da via fecal-oral, ocorre a invasão do sistema linfático, onde há a presença de células M sobrejacentes às placas de Peyer no íleo, causando diversos tipos de lesões inflamatórias crônicas nos órgãos intestinais e linfoides (Windsor, 2014; Kumar *et al.*, 2010).

Esse processo ocorre após a adesão na mucosa intestinal, onde as micobactérias são fagocitadas pelas células M até chegarem aos linfonodos mesentéricos (Bannantine *et al.*, 2013). No sistema linfático, os microrganismos se alojam no interior dos macrófagos bloqueando a formação do fagolisossomo, responsável pela fagocitose do agente, e por sua vez, permitindo a multiplicação de *Map* (Coussens *et al.*, 2010; Lambeth *et al.*, 2004; Windsor; Whittington, 2020).

A má absorção de nutrientes ocorre devido ao espessamento da mucosa intestinal, comprometimento da vascularização local e drenagem linfática. Dessa forma, os nutrientes sendo menos absorvidos podem favorecer a ocorrência de alguns sinais clínicos nos ovinos como emagrecimento progressivo, redução da conversão alimentar e em alguns casos fezes amolecidas e diarreia (Bannantine *et al.*, 2013; Coussens *et al.*, 2010). Em contrapartida, pode ocorrer a infecção de *Map* no úbere, trato reprodutor, feto, rins, pulmões e fígado, devido à entrada de macrófagos infectados na corrente sanguínea (Coussens *et al.*, 2010; Idris *et al.*, 2021).

Dependendo da cepa de *Map* infectante, as respostas imunes e patológicas desenvolvidas pelo hospedeiro podem sofrer alterações (Windsor, 2015). Todavia, por apresentar um longo período de incubação, a eliminação do agente nas fezes ocorre geralmente na fase final da infecção, podendo ou não ter a ocorrência de sinais clínicos (Begg *et al.*, 2017; Timms *et al.*, 2011).

Há três formas, distintas entre si, de paratuberculose em ovinos, conhecidas como multibacilar, paucibacilar e infecção assintomática (Gillan *et al.*, 2010; Smeed *et al.*, 2007). A infecção multibacilar apresenta predominantemente resposta imunológica humoral com a produção de citocinas mediadas pelas células Th2 que ativam outras células responsáveis pela

produção de anticorpos. Nessa forma, histologicamente no intestino é encontrado grande quantidade de infiltrados de macrófagos e de *Map* e há expressão significativa de IL-10 (Begg *et al.*, 2017; Dennis; Reddacliff; Whittington, 2011; Smeed *et al.*, 2007). Uma enterite granulomatosa com atrofia das vilosidades, necrose e hiperplasia das placas de Peyer também podem ser observados nesse estágio (Coelho *et al.*, 2018).

No entanto, a forma paucibacilar produz uma resposta imune diferente através da produção de citocinas pelas células Th1 que induz uma resposta celular. Os infiltrados de células T e eosinófilos são bastantes presentes em exames histológicos, podendo ocorrer teste Ziehl-Neelsen negativo e expressão de IFN $\gamma$  (Timms *et al.* 2011; Windsor, 2015). Na infecção assintomática geralmente não há achados patológicos e/ou sinais clínicos nos ovinos infectados, e dessa maneira a resposta imune da infecção é não definida (Dennis; Reddacliff; Whittington, 2011; Windsor; Whittington, 2020).

#### 2.1.5. Sinais Clínicos

Os sinais clínicos que seriam evidentes em bovinos como diarreia profusa e aquosa com perda de peso, geralmente não são encontrados em pequenos ruminantes, como os ovinos. Nessa espécie, de maneira geral, os sinais mais evidentes são emagrecimento progressivo, baixa conversão alimentar e fezes amolecidas (Windsor, 2015).

Por apresentar um caráter crônico, os sinais clínicos de paratuberculose podem ocorrer após meses do contato com o agente infeccioso, entre dois a quatro anos de idade, principalmente nos casos em que há evolução para a forma multibacilar da doença (Begg *et al.*, 2017; Idris *et al.*, 2021). Nesses casos mais austeros, também podem ser observados perda grave de peso corporal que pode levar a casos de caquexia, diarreia intermitente, edema submandibular e perda de lã (Sonawane; Tripathi, 2013). Sendo relatados também hipoproteinemia, redução do cálcio sérico (Idris *et al.*, 2021) e infecções uterinas na espécie ovina (Lambeth *et al.*, 2004; Windsor, 2014).

O surgimento de sinais clínicos pode estar relacionado à alguns fatores de estresse como parto, aleitamento, deficiência nutricional, parasitismo,

transporte, dentre outros (Idris *et al.*, 2021; Mota *et al.*, 2007; Windsor; Whittington, 2020). Porém, outros animais mesmo após a infecção prolongada por *Map* podem eliminar temporariamente o agente ou simplesmente não desenvolver sinais clínicos, como no caso dos ovinos com a forma paucibacilar e assintomática da infecção (Dennis; Reddacliff; Whittington, 2011; Windsor, 2015).

Mesmo que os animais se infectem ainda jovens, somente uma parte dos infectados vai desenvolver a forma clínica da doença, os demais são considerados resistentes à colonização por *Map* ou debelam a infecção tornando-se subclínico ou assintomático (Idris *et al.*, 2021; Lilenbaum; Marassi; Oelemann, 2007; Windsor; Whittington, 2020). No entanto, os animais que progridem para a doença clínica podem ser abatidos antes de apresentarem estágios avançados da infecção, principalmente quando se trata de rebanhos com aptidão para corte (Whittington *et al.*, 2019).

#### 2.1.6. Diagnóstico

A análise clínico-epidemiológica do rebanho ovino para avaliação do histórico da infecção e presença de sinais clínicos deve estar associada a testes laboratoriais para confirmação do diagnóstico (Oliveira *et al.* 2010; Whittington *et al.*, 2017). Os testes que podem ser realizados são: isolamento bacteriano; histopatologia; coloração de Ziehl-Neelsen; testes sorológicos como o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA); e moleculares como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (Coelho *et al.*, 2018; WOA, 2021). Geralmente, a difícil identificação do estágio clínico de ovinos infectados pode dificultar o diagnóstico de paratuberculose, dessa forma a combinação de exames complementares podem contribuir para um melhor resultado diagnóstico da infecção (Sonawane; Tripathi, 2013; Whittington *et al.*, 2017).

Para o isolamento do agente etiológico, a cultura fecal poderá ser utilizada, contudo devido às características da micobactéria e sua patogenia em ovinos, o tempo de crescimento pode variar de quatro a seis meses dependendo da cepa infectante. Como *Map* é dependente de ferro, é necessário que o meio contenha micobactina, podendo ser utilizados meios seletivos como Middlebrook

7H9, 7H10 ou 7H11, Herrold (HEYM, Herrold *egg yolk medium*), Löwenstein-Jensen e Dubbos modificado para observação de colônias sugestivas de *Map*. O procedimento para isolamento bacteriano é difícil e demorado, pois requer amostras fecais ou de tecido com quantidade razoável de bactérias para incubação por longo período tempo em temperatura de 37°C (Coelho *et al.*, 2009; Nielsen; Toft, 2008; Roller *et al.*, 2020).

Entretanto, o não crescimento bacteriano pode indicar contaminações com agentes fúngicos ou bacterianos, não seguimento do protocolo de isolamento ou baixa carga bacteriana (Nielsen; Toft, 2008; Roller *et al.*, 2020). Contudo, o teste apresenta uma boa sensibilidade em animais com alta carga de microrganismos eliminada nas fezes e com a presença de sinais clínicos da infecção, entretanto, em assintomáticos e com baixa eliminação do agente, especialmente na fase subclínica da infecção, a sensibilidade do teste pode diminuir consideravelmente (Nielsen; Toft, 2008; Souza *et al.*, 2018; Whittington *et al.*, 2017).

Nos achados de necropsia em ovinos com infecções paucibacilares pode ser observado linfonodos mesentéricos aumentados, espessamento da mucosa do íleo e da válvula ileocecal com vilosidades infiltradas por vários macrófagos e linfócitos. Nas lâminas basais e placas de *Peyer* podem ser encontrados granulomas com macrófagos e células multinucleadas gigantes, contudo há pouca quantidade de *Map* (Dennis; Reddacliff; Whittington, 2011; Sonawane; Tripathi, 2013; Begg *et al.*, 2011). Para ovinos com a forma multibacilar da infecção, os achados patológicos são marcantes, pois é observado enterite granulomatosa através do espessamento quase que completo do intestino com a ocorrência de edema e infiltrados celulares. A linfadenite também está presente com o aumento e calcificação dos linfonodos mesentéricos. Nas vilosidades do intestino há presença de células com alta quantidade de *Map*, linfócitos e macrófagos, o que facilita o diagnóstico da infecção (Dennis; Reddacliff; Whittington, 2011; Sonawane; Tripathi, 2013; Whittington *et al.*, 2017). Entretanto, não há achados patológicos sugestivos da infecção por *Map* em animais assintomáticos (Begg *et al.*, 2011; Gillan *et al.*, 2010).

A coloração de Ziehl-Neelsen (ZN) permite identificar bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) através do exame microscópico de esfregaços fecais e de tecidos de animais infectados (Coelho *et al.*, 2008; Kumthekar *et al.*, 2013).

Dependendo do estágio da infecção, a técnica é bastante sensível podendo ser observada grande quantidade de micobactérias dispostas em grumos no interior dos macrófagos, no entanto, o diagnóstico se torna mais difícil na forma assintomática ou paucibacilar da infecção em ovinos (Kumthekar *et al.*, 2013; Singh *et al.*, 2013). Como vantagem pode ser observada rapidez, praticidade e economia, sendo geralmente utilizado como teste de triagem em exames histopatológicos (Coelho *et al.*, 2008; Idris *et al.*, 2021).

O teste de Imunohistoquímica (IHQ) pode ser utilizado para identificar antígenos de *Map* que ficam acumulados no intestino dos animais infectados onde há a presença de alta quantidade de micobactérias (Coelho *et al.*, 2018). O teste apresenta sensibilidade mais alta em relação às outras técnicas de diagnóstico como o isolamento bacteriano, principalmente nos casos em que a excreção de fezes dos animais é baixa ou intermitente, o que nos ovinos pode ocorrer na forma paucibacilar ou assintomática da infecção (Souza *et al.*, 2018; Yamasaki *et al.*, 2013).

Os testes sorológicos utilizados em infecções por *Map* são: teste de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA), Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) e Fixação de Complemento (FC) (Lilenbaum; Marassi; Oelemann, 2007). O IDGA é um teste bastante sensível para o diagnóstico da infecção subclínica por *Map*, em que a resposta imune é analisada pela presença de ligações antígeno-anticorpo. As vantagens do método consistem em ser de rápida, fácil execução e baixo custo comparado a outros testes (Kumthekar *et al.* 2013; Lilenbaum; Marassi; Oelemann, 2007; Nielsen; Toft, 2008).

O teste de FC é um teste de baixo custo e de fácil execução, contudo pode apresentar baixa sensibilidade em infecções subclínicas devido a quantidades de proteínas ativadoras de complemento presentes no soro dos animais, ao tipo de antígeno utilizado ou a reações cruzadas (Bannantine *et al.*, 2004, Ikononopoulos *et al.*, 2007).

A identificação de anticorpos anti-*Map* é realizada pelo ELISA, no entanto, sua sensibilidade pode variar dependendo do estágio de infecção do animal (Gillan *et al.*, 2010; Ponce Barraza *et al.*, 2017) e do tipo de antígeno presente nos kits comerciais disponíveis em cada país (Elsohaby *et al.*, 2021; Idris *et al.*, 2021). A rapidez, baixo custo, detecção de casos subclínicos, análise por

rebanho são algumas das vantagens que esse método apresenta em relação aos demais (Singh *et al.*, 2009; Hosseiniporgham *et al.*, 2020).

Vale salientar que nos estágios iniciais da infecção por *Map*, a resposta celular é a mais frequente e por isso, testes sorológicos realizados nessa fase podem não detectar anticorpos anti-*Map* (Whittington *et al.*, 2017). Em contrapartida, se a infecção progredir e a produção de anticorpos for maior, os testes sorológicos conseguem ser mais sensíveis e específicos. Entretanto, nos estágios finais da infecção os animais podem se encontrar em um período de anergia, em que não há detecção de resposta imunológica celular ou humoral no hospedeiro infectado (Timms *et al.*, 2011; Idris *et al.*, 2021).

Além disso, a positividade sorológica de um rebanho com a presença de sinais clínicos de paratuberculose, indica a confirmação dos casos, porém a resposta imune dos ovinos difere de caprinos e bovinos, dessa forma, não se deve excluir ovinos com resultados de testes de sorologia negativa (Gillan *et al.*, 2010; Idris *et al.*, 2021).

Na espécie ovina a produção de anticorpos é mais tardia, dificultando ainda mais o diagnóstico sorológico de *Map* na espécie (Nielsen; Toft, 2008; Idris *et al.*, 2021).

Testes moleculares, como a Reação de Cadeia Polimerase convencional (PCR) e em tempo em real (qPCR) permitem detectar *Map* diretamente de fezes, leite, tecidos e colônias por meio da análise do gene IS900 do DNA da micobactéria. É um método de rápida execução, bastante sensível e que possibilita a identificação de animais mesmo em estágio subclínico (Selim; Gaede, 2015; Timms *et al.*, 2011). Entretanto, quando há pouca quantidade de DNA nas fezes ou a presença de inibidores, que podem ser adquiridos durante a extração do DNA, a sensibilidade do teste pode variar. Ainda é considerado um método oneroso e que necessita de muitos recursos para ser desenvolvido (Begg *et al.*, 2017; Plain *et al.*, 2014). De maneira geral, a PCR também permite realizar testes genotípicos dos isolados de *Map* para posterior análise filogenética com identificação do tipo de cepa infectante, contribuindo para análise epidemiológica molecular da infecção da região que for estudada (Elsohaby *et al.*, 2021; Motiwala *et al.*, 2006; Plain *et al.*, 2014).

Dificuldades em detectar o agente podem ser encontradas quando fatores relacionados a baixa e intermitente excreção de *Map* e a distribuição

heterogênea do microrganismo em amostras fecais são encontradas, por isso, faz-se necessário o uso de métodos de diagnóstico combinados, regulares e repetidos para aumentar as chances de detecção do patógeno e do estágio da infecção dentro do rebanho (Roller *et al.*, 2020; Whittington *et al.*, 2017).

#### 2.1.7. Prevenção e Controle

Geralmente, os animais acometidos com paratuberculose não são responsivos a tratamento e desta maneira o uso de medicamentos pode reduzir a excreção de *Map* nas fezes e os sinais clínicos apresentados. Contudo, por ser uma doença de caráter crônico o uso de medicações precisa ser feito por muito tempo e isto não é recomendado aos animais, uma vez que pode gerar perdas econômicas ao produtor devido ao alto custo do tratamento (Coelho *et al.*, 2018; Sweeney *et al.*, 2012; Whittington *et al.*, 2019).

A vacinação não está disponível para o Brasil, somente em países como Austrália, Estados Unidos da América e países do continente europeu (Reddacliff *et al.*, 2006; Windsor, 2015). O uso da vacina tem gerado bons resultados nos países onde é autorizada, entretanto, o seu uso é limitado em reduzir casos de paratuberculose clínica, minimizando sinais clínicos na forma grave da doença e a excreção do agente (Idris *et al.*, 2021; Reddacliff *et al.*, 2006; Robbe-Austerman, 2011).

No entanto, mesmo com vacinação dos animais, ainda pode ocorrer a transmissão do agente causador da infecção dentro do rebanho (Sweeney *et al.*, 2012; Windsor, 2015, 2014). A vacina pode ser produzida com o agente atenuado ou inativado e reações cruzadas com teste intradérmico de tuberculose podem ocorrer. Devido a isso, o seu uso deve estar associado a outras medidas profiláticas para evitar ou atenuar a ocorrência de paratuberculose (Idris *et al.*, 2021; Sweeney *et al.*, 2012; Windsor, 2015).

Para garantir o controle e a prevenção de paratuberculose em rebanhos de pequenos ruminantes, especialmente ovinos, é necessária a adoção de práticas de biossegurança que evitem a entrada e permanência de agentes infecciosos como *Map* (Mee *et al.*, 2012; Idris *et al.*, 2021).

É importante destacar a diferença entre os termos biosseguridade e biossegurança. No âmbito da produção animal o termo biosseguridade compreendem ações que promovem a prevenção e proteção contra agravos e agentes infecciosos intra e inter-rebanho que coloquem em risco à saúde dos animais (Hayes *et al.*, 2018; Mee *et al.*, 2012). Já a biossegurança são essas medidas preventivas voltadas para a proteção dos seres humanos (Chaubey *et al.*, 2016; Mee *et al.*, 2012).

Por isso, a adoção de práticas de biosseguridade e de biossegurança, de maneira geral, ajudam a promover a saúde do coletivo. Ademais, quando essas medidas são bem realizadas em conjunto não só minimizam a disseminação de patógenos para os animais, como também reduzem significativamente as perdas econômicas diretas e indiretas para o produtor rural (Brennan, Christley, 2013; Reicks, 2019).

Um manejo higiênico-sanitário é indispensável para prevenir a paratuberculose, no entanto, outras medidas também são importantes para minimizar os danos causados por doenças infecciosas como paratuberculose. Dentre as principais medidas de biosseguridade que podem ser aplicadas para prevenção da infecção, destacam-se: evitar o contato de ovinos, especialmente jovens, com fezes de outros animais; adquirir animais com *status* sorológico negativo, porém a realização desses testes deve ocorrer de forma periódica; realizar quarentena dos animais recém-adquiridos; realizar manejo adequado dos animais recém-nascidos com utilização de piquetes maternidade; evitar superlotação dos animais; segregar animais jovens e adultos; realizar rotação das pastagens; caso ocorra criação consorciada com outros ruminantes, cuidados sanitários devem ser adotados; fornecer água, alimentos e colostro de qualidade aos animais sem contaminação com *Map* (Idris *et al.*, 2021; WOA, 2021; Roller *et al.*, 2020).

Além disso, pode ser realizado o abate acompanhado de animais com sinais clínicos avançados da doença (Lambeth *et al.*, 2004; Windsor, 2014). Esse método é realizado com o intuito de reduzir a contaminação ambiental e minimizar as chances de transmissão do patógeno através do contato com água, leite e alimentos com fezes contaminadas, e dessa forma, evitar a transmissão via leite e/ou colostro ou via uterina aos ovinos (Reddacliff *et al.*, 2006; Windsor, 2015). Os ovinos quando apresentam a forma clínica de paratuberculose podem

excretar grande quantidade de micobactérias nas fezes (Reddacliff *et al.*, 2006; Robbe-Austerman, 2011) e esses microrganismos podem permanecer no meio ambiente por um longo período de tempo em condições favoráveis, se tornando um desafio para o controle da doença (Todd *et al.*, 2014).

A realização de testes de diagnóstico combinados e regulares permite conhecer a exposição ao *Map* nos rebanhos ovinos e dessa forma direcionar as medidas profiláticas que devem ser implementadas ou reforçadas em cada propriedade. Por isso, profissionais que lidam com a ovinocultura devem estar atentos a essas práticas para diminuir os custos e prejuízos causados pela infecção nos rebanhos (Whittington *et al.*, 2019, 2017). O controle da infecção é afetado quando há escassez das práticas de biossegurança associado a longa sobrevivência de *Map* no meio ambiente e falta de diagnóstico de ovinos com infecção subclínica (Sweeney *et al.*, 2012; Windsor, 2015).

Programas de controle de paratuberculose são realizados em alguns países como é o caso dos EUA, em que se recomenda a utilização de medidas de biossegurança para o controle da infecção, bem como a realização de treinamentos pelos médicos veterinários e produtores rurais cadastrados. Também são realizados nesses programas testes de diagnóstico dos rebanhos para verificação de prevalências e adoção das melhores medidas profiláticas para a enfermidade (Benjamin *et al.*, 2010).

#### 2.1.8. Educação em Saúde

A prevenção de doenças é uma das principais medidas para garantir a saúde da população humana e animal, porém para que isso ocorra é necessário um conhecimento prévio sobre o assunto para os diferentes tipos de profissionais da saúde (WOAH, 2019). Essa interação entre humanos, animais e o meio ambiente induz a ocorrência de doenças infecciosas, zoonóticas ou não, mas que podem contribuir em impactos socioeconômicos e sanitários consideráveis para a população envolvida (Conrad *et al.*, 2009; Nielsen *et al.*, 2012).

Diante disso, a educação em saúde representa um importante papel para auxiliar os profissionais ligados aos serviços de saúde e agropecuários sobre os aspectos inerentes ao controle de doenças, especialmente infecciosas, nos

animais e que podem gerar impactos em humanos (Conrad *et al.*, 2009; Nielsen *et al.*, 2014).

A partir disso, na produção animal, os órgãos de defesa mundial, nacional e estadual são os principais responsáveis por promover medidas e ações pautadas na educação e aperfeiçoamento dos profissionais da área para que esse conhecimento também alcance o “homem do campo” (Gazzinelli *et al.*, 2005; Nielsen *et al.*, 2014; Hayes *et al.*, 2018). Por isso, a capacitação profissional, a realização de cursos de aperfeiçoamento e palestras são algumas das formas de agregar conhecimento sobre os principais agentes infecciosos que podem se tornar um risco para a produção animal e potencialmente para a saúde pública (Blackwell; Leap, 2008; Nielsen *et al.*, 2014).

Por muitas vezes observa-se carência entre os profissionais do campo que lidam com animais referentes ao conhecimento sobre a epidemiologia de doenças infecciosas importantes para o rebanho, principalmente em relação às formas de transmissão, diagnóstico e medidas preventivas (Morel, 2020; Hayes *et al.*, 2018). Por sua vez, esse desconhecimento pode causar impactos decorrentes da falta ou falhas na realização de diagnóstico e notificação de doenças, prejudicando assim, o controle e erradicação dessas enfermidades (Blackwell; Leap, 2008; Hayes *et al.*, 2018).

Dessa forma, a atuação em conjunto de todos esses profissionais e serviços é salutar para promover a troca de informações e garantir uma educação em saúde amplamente difundida e bem elaborada (Gyles, 2016).

#### 2.1.9. Paratuberculose na Saúde Pública

O agente é considerado um potencial risco para a saúde pública, já que o bacilo foi isolado em pacientes humanos com enterite crônica, conhecida como Doença de Crohn (Autschbach *et al.*, 2005; Bull *et al.*, 2003; Davis; Kuenstner; Singh, 2017; Eslami *et al.*, 2019) no leite materno desses pacientes (Grant *et al.*, 2015). A doença de Crohn se assemelha a Doença de Johne em animais por ser uma doença inflamatória granulomatosa que causa lesões intestinais, dor, diarreia e desnutrição (Thia *et al.*, 2010).

A etiologia da Doença de Crohn ainda não é bem esclarecida, mas acredita-se ser uma enfermidade multifatorial relacionada à susceptibilidade genética e a exposição a antígenos (Atreya *et al.*, 2014; WOA, 2021; Waddell *et al.*, 2016; Whittington *et al.*, 2019). Entretanto, sabe-se que há uma ligação genética entre as duas doenças com a presença de genes de reconhecimento da parede celular bacteriana (Girardin *et al.*, 2003; Garvey, 2018).

*Map* pode ser encontrado em leite e derivados (Chaubey *et al.*, 2017; Galiero *et al.*, 2016; Windsor, 2015), na água, carne e em alimentos de consumo humano e animal (Espescht *et al.*, 2018; Waddell *et al.*, 2016). Uma outra possível fonte de transmissão zoonótica do agente para seres humanos, além de animais, é através do contato com fezes de animais doentes que estejam excretando *Map* (Garvey, 2018; Sweeney, 1996).

No Brasil, a micobactéria já foi identificada em leite bovino (Carvalho *et al.*, 2012; Albuquerque *et al.*, 2017), em queijo (Albuquerque *et al.*, 2019) e em material de biópsia intestinal de pacientes portadores da doença (Espescht *et al.*, 2017).

Outras doenças em seres humanos também foram associadas ao *Map* como diabetes tipo 1 (Sechi *et al.*, 2008), esclerose múltipla (Cossu *et al.*, 2011), tireoidite de Hashimoto (D'Amore *et al.*, 2010) e Síndrome de Blau (Dow; Ellingson, 2010), devido a interação molecular que o agente pode induzir entre proteínas do órgão-alvo do hospedeiro e da própria bactéria (Sechi; Dow, 2015).

Há evidências de que portadores da doença de Crohn têm mais chances de se infectarem com *Map*, devido a presença de antígenos *Map* que favorecem uma resposta inflamatória exacerbada nos pacientes, no entanto, o conhecimento de como essa interação ocorre é limitado (Waddell *et al.*, 2016; Whittington *et al.*, 2019). Para que essa comprovação aconteça é necessário que o agente seja isolado e capaz de causar infecção em outro hospedeiro susceptível, porém os meios e técnicas para a realização dessa atividade ainda não são viáveis (Garvey, 2018). Por isso, caso ocorra a comprovação dessa associação, os estudos relacionados à doença, a transmissão do agente e os fatores associados à infecção se tornam fundamentais para compreender e implantar medidas de controle e prevenção da paratuberculose no âmbito da saúde pública (Barkema *et al.*, 2018; Whittington *et al.*, 2019).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Geral

- Realizar um estudo epidemiológico-molecular da infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) em ovinos e analisar a percepção dos médicos veterinários e produtores rurais sobre a paratuberculose e práticas de biossegurança no estado de Pernambuco, Brasil.

#### 3.2. Específicos

- Analisar sistematicamente e realizar meta-análise da prevalência geral da infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) em ovinos no mundo;
- Determinar a soroprevalência da infecção por *Map* em propriedades com criação de ovinos do estado de Pernambuco;
- Isolar *Map* a partir de amostras fecais de ovinos;
- Detectar o DNA de *Map* em amostras fecais de ovinos;
- Analisar a percepção dos médicos veterinários e produtores rurais sobre a paratuberculose e as práticas de biossegurança aplicadas à prevenção de doenças infecciosas;
- Elaborar um material didático sobre práticas de biossegurança aplicadas à paratuberculose para ações de educação em saúde.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, P. P. F. et al. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in bovine milk from the state of Pernambuco, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 113-117, 2017.
- ALBUQUERQUE, P. P. F. et al. Occurrence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in coalho cheese in the State of Pernambuco, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 6, p. 1917–1921, 13 dez. 2019.
- ALHARBI, Khaled B. et al. Pathology and molecular diagnosis of paratuberculosis of camels. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, p. 173-177, 2012.
- ARMSTRONG, Philip. Sheep. Reaktion Books, 2016.
- ASHWORTH, S.; GUNN, G. J. Assessment of surveillance and control of Johne's disease in farm animals in GB. Assessment of surveillance and control of Johne's disease in farm animals in GB. Edinburgh: SAC, p. 1-245, 2001.
- ATREYA, R. et al. Facts, myths and hypotheses on the zoonotic nature of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 304, p. 858-867, 2014.
- ATTILI, Rita, A. et al. Ovine paratuberculosis: a seroprevalence study in dairy flocks reared in the marche region, Italy. **Veterinary medicine international**, v. 2011, 2011.
- AUTSCHBACH, F. et al. High prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* IS900 DNA in gut tissues from individuals with Crohn's disease. **Gut**, v. 54, n. 7, p. 944-949, 2005.
- BANNANTINE, J. P. et al. How does a *Mycobacterium* change its spots? Applying molecular tools to track diverse strains of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. **Letters in applied microbiology**, v. 57, n. 3, p. 165–173, set. 2013.
- BARKEMA, H. W. et al. Knowledge gaps that hamper prevention and control of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 65, p. 125–148, 1 maio 2018.
- BAUMAN, C. A. et al. Evaluation of fecal culture and fecal RT-PCR to detect *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* fecal shedding in dairy goats and dairy sheep using latent class Bayesian modeling. **BMC Veterinary Research**, v. 12, n. 1, 20 set. 2016.
- BAUMAN, C. A. et al. Identification of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* strains isolated from dairy goats and dairy sheep in Ontario, Canada. **Canadian journal of veterinary research**, v. 81, n. 4, p. 304–307, out. 2017.
- BEGG, D. J. et al. Does a Th1 over Th2 dominancy really exist in the early stages of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infections? **Immunobiology**, v. 216, n. 7, p. 840–846, jul. 2011.

- BEGG, D. J. et al. Variation in susceptibility of different breeds of sheep to *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* following experimental inoculation. **Veterinary Research**, v. 48, n. 1, p. 1–11, 17 jun. 2017.
- BENJAMIN, L. A. et al. Attitudes towards biosecurity practices relevant to Johne's disease control on beef cattle farms. **Preventive veterinary medicine**, v. 94, n. 3-4, p. 222-230, 2010.
- BLACKWELL, Michael J.; LEAP, Rebecca L. Veterinary medicine is public health. **Journal of Veterinary Medical Education**, v. 35, n. 2, p. 148-149, 2008.
- BOTSARIS, George et al. Detection of viable *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in powdered infant formula by phage-PCR and confirmed by culture. **International journal of food microbiology**, v. 216, p. 91-94, 2016.
- BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa da Pecuária Municipal. Produção Pecuária Municipal. Rio de Janeiro, v. 45, p.1-8, 2017.
- BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2021). Pesquisa da Pecuária Municipal. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>. Acesso em: 02 jul. 2023.
- BRENNAN, M. L., CHRISTLEY, R. M. Cattle producers' perceptions of biosecurity. **BMC veterinary research**, v. 9, n. 1, p. 1-8, 2013.
- BRYANT, J. M. et al. Phylogenomic exploration of the relationships between strains of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. **BMC genomics**, v. 17, n. 1, p. 1-12, 2016.
- BULL, T. J. et al. Detection and verification of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in fresh ileocolonic mucosal biopsy specimens from individuals with and without Crohn's disease. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 7, p. 2915-2923, 2003.
- BUSH, R.; WINDSOR, P.; TORIBIO, J.-A. Losses of adult sheep due to ovine Johne's disease in 12 infected flocks over a 3-year period. **Australian Veterinary Journal**, v. 84, n. 7, p. 246–253, jul. 2006.
- CARVALHO, I. A. et al. Genetic evaluation of IS900 partial sequence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Brazilian isolates from bovine milk. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, n. 7, p. 1331-1334, 2012.
- CHAUBEY, K. K. et al. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* – An important food borne pathogen of high public health significance with special reference to india: An update. **Veterinary Quarterly**, v. 37, n. 1, p. 282–299, 2017.
- CHAUBEY, K. K. et al. Trends and advances in the diagnosis and control of paratuberculosis in domestic livestock. **Veterinary Quarterly**, v. 36, n. 4, p. 203-227, 2016.
- COELHO, A. C. et al. Coloração de Ziehl-Neelsen como método rápido de diagnóstico de paratuberculose ovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 5, p. 1097–1102, out. 2008.
- COELHO, A. C. et al. Comparação de duas técnicas de isolamento do *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em amostras de fezes de ovinos

com suspeita clínica de paratuberculose. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 415-420, 2009.

COELHO, A. C. et al. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* by several diagnostics techniques in clinical suspected sheep. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v. 68, n. 2, p. 167–174, 29 jan. 2018.

COELHO, A. et al. A seroepidemiological survey of *Map* in sheep from North of Portugal. **Pesq. Vet. Bras**, v. 30, n. 11, p. 903–908, 2010.

CONDE, C. et al. Whole-Genome Analysis of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* IS 900 Insertions Reveals Strain Type-Specific Modalities. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 660002, 2021.

CONRAD, Patricia A. et al. Evolution of a transdisciplinary “One Medicine–One Health” approach to global health education at the University of California, Davis. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 92, n. 4, p. 268-274, 2009.

CORREA-VALENCIA, Nathalia M. et al. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) molecular diversity in cattle, sheep, and goats from Latin America and the Caribbean: a systematic review. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, n. 5, p. 468, 2021.

CORTI, Paulo et al. Dynamic of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in a domestic–wildlife interface: Domestic sheep and guanaco as reservoir community. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 69, n. 4, p. e161-e174, 2022.

COSSU, Davide et al. Association of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* with multiple sclerosis in Sardinian patients. **PLoS One**, v. 6, n. 4, p. e18482, 2011.

COUSSENS, P. et al. Host-pathogen interactions and intracellular survival of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. **Paratuberculosis: Organism, Disease, Control**, p. 109–125, 29 jan. 2010.

D'AMORE, Massimo et al. Molecular identification of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in an Italian patient with Hashimoto's thyroiditis and Melkersson-Rosenthal syndrome. **Journal of Medical Microbiology**, v. 59, n. 1, p. 137-139, 2010.

DAVIS, W. C.; KUENSTNER, J. T.; SINGH, S. V. Resolution of Crohn's (Johne's) disease with antibiotics: what are the next steps? **Expert Review of Gastroenterology and Hepatology Taylor and Francis Ltd**, 4 maio 2017.

DE AQUINO, et al. A realidade da caprinocultura e ovinocultura no semiárido brasileiro: um retrato do sertão do Araripe, Pernambuco. **Pubvet**, v. 10., n. 4, p. 271-281, 2016.

DENNIS, M. M.; REDDACLIFF, L. A.; WHITTINGTON, R. J. Longitudinal study of clinicopathological features of Johne's disease in sheep naturally exposed to *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. **Veterinary pathology**, v. 48, n. 3, p. 565–575, maio 2011.

DOW, C. Thomas; ELLINGSON, Jay Le. Detection of *Mycobacterium avium* ss. *paratuberculosis* in Blau syndrome tissues. **Autoimmune Diseases**, v. 2010, 2010.

DUFOUR, B.; POUILLOT, R.; DURAND, B. A cost/benefit study of paratuberculosis certification in French cattle herds. **Veterinary research**, v. 35, n. 1, p. 69-81, 2004.

ELSOHABY, I. et al. Serological and Molecular Characterization of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) from Sheep, Goats, Cattle and Camels in the Eastern Province, Saudi Arabia. **Animals: an open access journal from MDPI**, v. 11, n. 2, p. 323, jan. 2021.

ESLAMI, M. et al. *Mycobacterium avium paratuberculosis* and *Mycobacterium avium* complex and related subspecies as causative agents of zoonotic and occupational diseases. **Journal of Cellular Physiology Wiley-Liss Inc.**, 1 ago. 2019.

ESPESCHIT, I. F. et al. First molecular typing of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* identified in animal and human drinking water from dairy goat farms in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 358–361, 1 abr. 2018.

ESPESCHIT, I. F. et al. Risk Factors for the Presence of *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* in Human Intestinal Biopsies in Brazil. **Austin Journal Gastroenterology**, v. 4, n. 2, p. 1083, 2017.

FREITAS, T. D. et al. Epidemiological characterization and risk factors associated with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in dairy goats in the Brazilian semiarid region. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 267–275, 2015.

GALIERO, A. et al. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in a sheep flock in Tuscany. **Tropical Animal Health and Production**, v. 47, n. 8, p. 1567–1571, 1 dez. 2015.

GALIERO, A. et al. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in cheeses from small ruminants in Tuscany. **International journal of food microbiology**, v. 217, p. 195–199, jan. 2016.

GARCIA, A. B.; SHALLOO, L. Invited review: The economic impact and control of paratuberculosis in cattle. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 8, p. 5019-5039, 1 ago. 2015.

GARVEY, Mary. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*: A possible causative agent in human morbidity and risk to public health safety. **Open veterinary journal**, v. 8, n. 2, p. 172-181, 2018.

GAUTAM, M. et al. Control of clinical paratuberculosis in New Zealand pastoral livestock. **New Zealand veterinary journal**, v. 66, n. 1, p. 1–8, jan. 2018.

GAZZINELLI, Maria Flávia et al. Educação em saúde: conhecimentos, representações sociais e experiências da doença. **Cadernos de saúde Pública**, v. 21, p. 200-206, 2005.

GIANNITTI, F. et al. *Mycobacterium paratuberculosis* sheep type strain in Uruguay: Evidence for a wider geographic distribution in South America. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 12, n. 03, p. 190-195, 2018.

GILLAN, S. et al. Identification of immune parameters to differentiate disease states among sheep infected with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. **Clinical and vaccine immunology: CVI**, v. 17, n. 1, p. 108–117, jan. 2010.

- GIRARDIN, Stephen E. et al. Nod1 detects a unique muropeptide from gram-negative bacterial peptidoglycan. **Science**, v. 300, n. 5625, p. 1584-1587, 2003.
- GYLES, Carlton. One medicine, one health, one world. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 57, n. 4, p. 345, 2016.
- HAYES, L. et al. Insights into the knowledge, practices and training needs of veterinarians working with smallholder livestock producers in Australia. **Preventive veterinary medicine**, v. 154, p. 54-62, 2018.
- HERNÁNDEZ-AGUDELO, M. et al. Prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in sheep flocks from three regions of Antioquia, Colombia. **Austral journal of veterinary sciences**, v. 53, n. 2, p. 83-90, 2021.
- HOSSEINIPORGHAM, S. et al. Identification of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) in Sheep Milk, a Zoonotic Problem. **Microorganisms**, v. 8, n. 9, p. 1264, 2020.
- HUTCHINGS, M. R. et al. Infection of non-ruminant wildlife by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. In *Paratuberculosis: Organism, Disease, Control*; Behr, M.A., Collins, D.M., Eds.; CABI: Wallingford, UK, pp. 188–200; 2010.
- IDRIS, S. M. et al. Paratuberculosis: The Hidden Killer of Small Ruminants. **Animals**, v. 12, n. 1, p. 1-18, dez. 2021.
- IKONOMOPOULOS, John et al. Comparative evaluation of positive tests to *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in clinically healthy sheep and goats in south-west Greece using molecular techniques, serology, and culture. **The Veterinary Journal**, v. 174, n. 2, p. 337-343, 2007.
- JACINTHO, A. P. P. et al. Paratuberculose em caprino. Anais XIV Encontro Nacional de Patologia Veterinária, São Paulo, SP, 2009.
- JORDAN, A. G. et al. Johne's disease in Irish dairy herds: considerations for an effective national control programme. **Irish Veterinary Journal**, v. 73, n. 1, p. 1-14, 2020.
- KHAMASSI KHBOU, M. et al. Seroprevalence of anti-*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* antibodies in female sheep in Tunisia. **Veterinary medicine and science**, v. 6, n. 3, p. 393–398, ago. 2020.
- KUMAR, S. et al. Wildlife (*Boselaphus tragocamelus*)-small ruminant (goat and sheep) interface in the transmission of “Bison type” genotype of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in India. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 33, n. 2, p. 145–159, mar. 2010.
- KUMTHEKAR, S. et al. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* confirmed following serological surveillance of small ruminants in Grenada, West Indies. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 25, n. 4, p. 527–530, jul. 2013.
- LAMBETH, C. et al. Intrauterine and transmammary transmission of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep. **Australian Veterinary Journal**, v. 82, n. 8, p. 504-508, 2004.
- LAMONT, Elise A. et al. Identification and characterization of a spore-like morphotype in chronically starved *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* cultures. **PLoS One**, v. 7, n. 1, p. e30648, 2012.

- LIAPI, M. et al. Bayesian estimation of the true prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in Cypriot dairy sheep and goat flocks. **Small Ruminant Research**, v. 95, n. 2–3, p. 174–178, fev. 2011.
- LILENBAUM, W.; MARASSI, C. D.; OELEMANN, W. M. R. Paratuberculosis: An update. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 4, p. 580–590, 2007.
- 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, n. 4, p. 317–327, 1998.
- MCGREGOR, H.; ABBOTT, K. A.; WHITTINGTON, R. J. Effects of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection on serum biochemistry, body weight and wool growth in Merino sheep: A longitudinal study. **Small Ruminant Research**, v. 125, p. 146-153, 2015.
- MEDEIROS, J. M. et al. Paratuberculose em caprinos e ovinos no Estado da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 111-115, 2012.
- MEE, J. F. et al. Bioexclusion of diseases from dairy and beef farms: risks of introducing infectious agents and risk reduction strategies. **The Veterinary Journal**, v. 194, n. 2, p. 143-150, 2012.
- MICHEL, A. L.; BASTIANELLO, S. S. Paratuberculosis in sheep: An emerging disease in South Africa. **Veterinary Microbiology**, v. 77, n. 3–4, p. 299–307, 2000.
- MILLER, David S. et al. Specificity of four serologic assays for *Mycobacterium avium* ss *paratuberculosis* in llamas and alpacas: a single herd study. **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 12, n. 4, p. 345-353, 2000.
- MIZZI, R. et al. Comparative genomics of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* sheep strains. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, p. 637637, 2021.
- MORALES-PABLOS, M. I. et al. Risk factors associated with the seroprevalence of paratuberculosis in sheep flocks in the hot-arid region of Sonora, México. **Tropical animal health and production**, v. 52, n. 3, p. 1357–1363, maio 2020.
- MOREL, Ana Paula Massadar. Da educação sanitária à educação popular em saúde: reflexões sobre a pandemia do coronavírus. **Revista estudos libertários**, v. 2, n. 3, p. 30-38, 2020.
- MOTA, R. A. et al. Ocorrência de paratuberculose em búfalos (*Bubalus bubalis*) em Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, 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, n. 2, p. 73–79, 2007.
- MOTIWALA, A. S. et al. Current understanding of the genetic diversity of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. **Microbes and infection**, v. 8, n. 5, p. 1406–1418, abr. 2006.
- NEBBIA, P. et al. Detection and excretion pattern of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in milk of asymptomatic sheep and goats by Nested-PCR. **Small Ruminant Research**, v. 66, n. 1–3, p. 116–120, nov. 2006.

- NIELSEN, N. Ole et al. Public policy and veterinary medicine. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 55, n. 4, p. 389, 2014.
- NIELSEN, N. Ole et al. Whither ecosystem health and ecological medicine in veterinary medicine and education. *The Canadian Veterinary Journal*, v. 53, n. 7, p. 747, 2012.
- NIELSEN, S. S.; TOFT, N. Ante mortem diagnosis of paratuberculosis: a review of accuracies of ELISA, interferon-gamma assay and faecal culture techniques. *Veterinary microbiology*, v. 129, n. 3–4, p. 217–235, jun. 2008.
- OLIVEIRA, D. M. et al. Paratuberculose em caprinos e ovinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 67-72, 2010.
- PILLARS, R. B. et al. Economic evaluation of Johne's disease control programs implemented on six Michigan dairy farms. **Preventive veterinary medicine**, v. 90, n. 3-4, p. 223-232, 2009.
- PLAIN, K. M. et al. High-throughput direct fecal PCR assay for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep and cattle. **Journal of clinical microbiology**, v. 52, n. 3, p. 745–757, mar. 2014.
- POESTER, F. P.; RAMOS, E. T. Infecção experimental em caprinos com *Mycobacterium paratuberculosis* de origem bovina. **Ciência Rural**, v. 24, p. 333-337, 1994.
- PONCE BARRAZA, E. et al. Evaluation of two in-house immunoenzymatic tests to serodiagnose subclinical paratuberculosis in a sheep flock in Mexicali valley, Mexico. **Journal of Immunoassay and Immunochemistry**, v. 38, n. 4, p. 420–429, 4 jul. 2017.
- POURMAHDI BORUJENI, M. et al. Comparison of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in cattle, sheep and goats in the Khuzestan Province of Iran: Results of a preliminary survey. **Veterinary medicine and science**, v. 7, n. 5, p. 1970–1979, 1 set. 2021.
- RANGEL, S. J. et al. A systematic review of risk factors associated with the introduction of *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* (MAP) into dairy herds. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 56, n. 2, p. 169, 2015.
- RASMUSSEN, P. et al. Economic losses due to Johne's disease (paratuberculosis) in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 3, p. 3123–3143, 1 mar. 2021.
- REDDACLIFF, L. et al. Efficacy of a killed vaccine for the control of paratuberculosis in Australian sheep flocks. **Veterinary microbiology**, v. 115, n. 1-3, p. 77-90, 2006.
- REICKS, D. L. Effective biosecurity to protect North American studs and clients from emerging infectious disease. **Theriogenology**, v. 137, p. 82-87, 2019.
- RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S. V. D.; AZEVEDO, E. O. Principais enfermidades de caprinos e ovinos no semiárido brasileiro. In: Anais Congresso Latinoamericano de Buiatria, Paysandú, Uruguay. (Resumo). 2011.
- ROBBE-AUSTERMAN, S. Control of paratuberculosis in small ruminants. *The Veterinary clinics of North America*. **Food animal practice**, v. 27, n. 3, p. 609–20, vii, nov. 2011.

- ROLLER, M. et al. *Mycobacterium avium* Subspecies *paratuberculosis* Infection in Zoo Animals: A Review of Susceptibility and Disease Process. **Frontiers in Veterinary Science**, Frontiers Media S.A., 23 dez. 2020.
- SÁ, L. D. M., OLIVEIRA, J. M. B., SANTOS, G. R. et al. Avaliação sorológica e de fatores de risco para a infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em rebanhos. **Pesq Vet Bras**. V. 33, n. 3, p. 310-313, 2013.
- SALGADO, Miguel et al. European hares in Chile: a different lagomorph reservoir for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*?. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 47, n. 3, p. 734-738, 2011.
- SARDARO, R. et al. Impact of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* on profit efficiency in semi-extensive dairy sheep and goat farms of Apulia, southern Italy. **Preventive veterinary medicine**, v. 136, p. 56–64, jan. 2017.
- SCHWARZ, D. G. G. et al. Passive shedding of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in commercial dairy goats in Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 10, p. 8426-8429, 2017.
- SECHI, Leonardo A. et al. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* bacteremia in type 1 diabetes mellitus: an infectious trigger?. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. 1, p. 148-149, 2008.
- SECHI, Leonardo A.; DOW, Coad Thomas. *Mycobacterium avium* ss. *paratuberculosis* zoonosis–The Hundred Year War–beyond Crohn’s disease. **Frontiers in immunology**, v. 6, p. 96, 2015.
- SELIM, A. M.; GAEDE, W. Comparative evaluation of PCR assay for direct detection of *mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in ruminant. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 10, n. 11, p. 761–771, 2015.
- SELIM, A.; ABDELHADY, A.; ABDELRAHMAN, A. Ovine Paratuberculosis: Seroprevalence and comparison of fecal culture and direct fecal PCR assay. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 74, p. 101526, fev. 2021.
- SHEPHARD, R. W.; WILLIAMS, S. H.; BECKETT, S. D. Farm economic impacts of bovine Johne’s disease in endemically infected Australian dairy herds. **Australian Veterinary Journal**, v. 94, n. 7, p. 232-239, 2016.
- SILVA, N. M. Estudos sobre a paratuberculose. IV. Infecção experimental de ovino com *Mycobacterium paratuberculosis* de origem bovina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**., v. 3, p. 285-289, 1968.
- SINGH, A. V et al. Comparative potential of modified indigenous, indigenous and commercial ELISA kits for diagnosis of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in goat and sheep. **Indian journal of experimental biology**, v. 47, n. 5, p. 379–382, maio 2009.
- SINGH, K. et al. Efficacy of “indigenous vaccine” using native “Indian bison type” genotype of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* for the control of clinical Johne’s disease in an organized goat herd. **Veterinary research communications**, v. 37, n. 2, p. 109–114, jun. 2013.

- SMEED, J. A. et al. Differential cytokine gene expression profiles in the three pathological forms of sheep paratuberculosis. **BMC veterinary research**, v. 3, n. 1, p. 1-11, 2007.
- SONAWANE, G. G.; TRIPATHI, B. N. Comparison of a quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) with conventional PCR, bacterial culture and ELISA for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in sheep showing pathology of Johne's disease. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 45, dez. 2013.
- SOUZA, G. D. S., RODRIGUEZ, A. B. F., ROMANO, M. I. et al. Identification of the apa protein secreted by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* as a novel fecal biomarker for Johne's disease in cattle. **Pathog Dis.**, v. 76, n. 6, p. fty063, 2018.
- SOUZA, M. C. C. et al. Molecular typing of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) isolated from dairy goats in Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 140, p. 18–21, 1 jul. 2016.
- SSEKITOLEKO, Judah et al. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Virulence: A Review. **Microorganisms**, v. 9, n. 12, p. 2623, 2021.
- STAU, A. et al. Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in small ruminants in Germany. **Small Ruminant Research**, v. 105, n. 1–3, p. 361–365, 1 jun. 2012.
- STEVENSON, K. et al. Occurrence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* across host species and European countries with evidence for transmission between wildlife and domestic ruminants. **BMC microbiology**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2009.
- STEVENSON, K. Genetic diversity of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* and the influence of strain type on infection and pathogenesis: a review. **Veterinary research**, v. 46, n. 1, p. 1-13, 2015.
- STEWART, D. J. et al. A long-term bacteriological and immunological study in Holstein-Friesian cattle experimentally infected with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and necropsy culture results for Holstein-Friesian cattle, Merino sheep and Angora goats. **Veterinary microbiology**, v. 122, n. 1–2, p. 83–96, maio 2007.
- STOTT, A. W. et al. Financial incentive to control paratuberculosis (Johne's disease) on dairy farms in the United Kingdom. **Veterinary Record**, v. 156, n. 26, p. 825-831, 2005.
- SWEENEY, R. W. et al. Paratuberculosis (Johne's disease) in cattle and other susceptible species. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 26, n. 6, p. 1239-1250, 2012.
- SWEENEY, R.W. 1996. Transmission of paratuberculosis. **Vet. Clin. North Am. Food Anim.Pract.** 12, 305-312.
- THIA, Kelvin T. et al. Risk factors associated with progression to intestinal complications of Crohn's disease in a population-based cohort. **Gastroenterology**, v. 139, n. 4, p. 1147-1155, 2010.

- TIMMS, V. J. et al. How accurately can we detect *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection? **Journal of Microbiological Methods**, v. 85, n. 1, p. 1–8, 2011.
- TIWARI, A. et al. Risk factors associated with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* seropositivity in Canadian dairy cows and herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 88, n. 1, p. 32–41, 2009.
- TODD, E. C. D. Bacteria: *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*. In: **Encyclopedia of Food Safety**. [s.l.] Elsevier, v. 1, p. 462–467, 2014.
- VIDIC, B. et al. Prevalence of Paratuberculosis Infection in Sheep. **Vet. Glas.**, v. 68, p. 165–174, 2014.
- WADDELL, L. et al. *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* detection in animals, food, water and other sources or vehicles of human exposure: A scoping review of the existing evidence. **Preventive Veterinary Medicine Elsevier B.V.**, 15 set. 2016.
- WHITTINGTON, R. J. et al. Case definition terminology for paratuberculosis (Johne's disease). **BMC veterinary research**, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2017.
- WHITTINGTON, R. J. et al. Control of paratuberculosis: Who, why and how. A review of 48 countries. **BMC Veterinary Research BioMed Central Ltd.**, 13 jun. 2019.
- WINDSOR, P. A. Managing control programs for ovine caseous lymphadenitis and paratuberculosis in Australia, and the need for persistent vaccination. **Veterinary medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 5, p. 11–22, 2014.
- WINDSOR, P. A. Paratuberculosis in sheep and goats. **Veterinary microbiology**, v. 181, n. 1–2, p. 161–169, dez. 2015.
- WINDSOR, P.; WHITTINGTON, R. Ovine Paratuberculosis Control in Australia Revisited. **Animals: an open access journal from MDPI**, v. 10, n. 9, set. 2020.
- World Organization Animal Health. WOA. PVS Tool For The Evaluation Of Performance Of Veterinary Services: Terrestrial, p. 1-52, 2019. Disponível em: <https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/2019-pvs-tool-final.pdf>. Acesso em: 03 ago. 2023.
- World Organization Animal Health. WOA. Terrestrial Manual: Chapter 3.1.15 - Paratuberculosis (Johne's disease); World Organization for Animal Health, p. 1-15, 2021. Disponível em: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.01.15\\_PARATB.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.15_PARATB.pdf). Acesso em: 02 ago. 2023.
- YAMASAKI, E. M. et al. Paratuberculose em ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 127-140, 2013.
- ZHAO, L. et al. Serological investigation and genotyping of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep and goats in Inner Mongolia, China. **PLoS ONE**, v. 16, n. 9 September, 1 set. 2021.

## CAPÍTULO 1

**Artigo 1: Primeiro diagnóstico sorológico da infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em ovinos no estado de Pernambuco, Brasil**

Artigo submetido à Revista Veterinary Research Communications

**First serological diagnosis of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in sheep in the state of Pernambuco, Brazil**

**Brief Report**

**Veterinary Research Communications**

Amanda de Noronha Xavier <sup>1</sup>, Luenda Menezes Novaes de Sá <sup>2</sup>, Maria de Nazaré Santos Ferreira <sup>1</sup>, Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira <sup>1</sup>, Rodolfo de Moraes Peixoto <sup>3</sup>, Rinaldo Aparecido Mota <sup>1</sup>, José Wilton Pinheiro Junior <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Veterinary Medicine, Federal Rural University of Pernambuco, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n- Dois Irmãos, Recife, PE, 52171-900 Brazil

<sup>2</sup>Floresta Campus, Federal Institute of the Pernambuco Sertão, Rua Projetada, s/n - Caetano II, Floresta, PE 56400-000 Brazil

<sup>3</sup>Campus Petrolina – Rural Zone, Federal Institute of the Pernambuco Sertão, PE 647, Km 22, PISNC N -4, Zona Rural, Petrolina, PE 56302-970 Brazil

Corresponding author: Amanda de Noronha Xavier.

E-mail address: [amandadenoronha@gmail.com](mailto:amandadenoronha@gmail.com) (Xavier AN)

## **Abstract**

This study aimed to realize the diagnosis of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) infection in sheep in the state of Pernambuco, Brazil. 276 blood samples were analyzed using the ELISA IDEXX Paratuberculosis Screening kit® and 261 fecal samples were submitted to bacterial culture and Polymerase Chain Reaction (PCR) tests. Of the 276 serum samples analyzed, 0.72% ( $n=2/276$ ) were positive for anti-*Map* antibodies with 20% focus infection ( $n=2/10$ ). All fecal samples were negative in culture as well as in molecular analyses. This is the first diagnostic study of *Map* infection in sheep in the state of Pernambuco and one of the pioneers in the country. It is an asymptomatic disease and difficult to diagnose in the species because the susceptibility of sheep to the agent is lower than in other ruminant species, however, the frequency found reveals that there is *Map* exposure in sheep herds in the region. In addition, serological monitoring can contribute to the observation of the behavior of the agent in the herds. Therefore, this research results support the important potential risk of *Map* infection in sheep in the state of Pernambuco, Brazil.

*Keywords:* Antibody; Prevalence; Johne's disease; Ovine; Paratuberculosis

## Introduction

Paratuberculosis is caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*), which can cause chronic infectious enteritis, also known as Johne's disease, affects ruminants, including sheep (Timms et al. 2011; Whittington et al. 2019).

Considering the implications for public health, *Map* has already been detected in products such as milk and its derivatives (Chaubey et al. 2017; Galiero et al. 2016), water, and food for human and animal consumption (Espeschit et al. 2018; Waddell et al. 2016). Although it is not yet considered a zoonosis, the agent has already been isolated in intestinal biopsy from patients with Crohn's disease which causes chronic enteritis in humans (Davis et al. 2017; Espeschit et al. 2017).

Due to its global distribution, it is considered a disease of socioeconomic importance, and its preventive and control methods are essential for international trade in animals and animal products (WOAH 2021). Generally, the disease in sheep occurs in subclinical form, however, the animals can become asymptomatic carriers and contribute to the transmission of the agent. The diagnosis of infection in the species is hard because the sheep show susceptibility lower than in other ruminant species to the agent (Idris et al. 2021). The presence of *Map* in sheep herds can reduce profits due to excessive weight loss, early slaughter, high mortality, and low fertility of infected sheep (Windsor 2015).

Because of the economic importance of paratuberculosis for sheep husbandry, economic losses related to sheep mortality have been reported in some countries, such as Australia (Bush et al. 2006; McGregor et al. 2015), New Zealand (Gautam et al. 2018), and Italy (Sardaro et al. 2017). It is estimated that the individual cost of a sheep with paratuberculosis can reach \$90 (MAFRA 2023), linked to this are the low production costs of these animals and the low prevalence of *Map* found may contribute to the fact that paratuberculosis in the species is a neglected problem in several countries (Galiero et al. 2016).

Serological and molecular studies of paratuberculosis in sheep have been performed in some countries such as Spain (Mainar-Jaime and Vázquez-Boland 1998), South Africa (Michel and Bastianello 2000), Portugal (Coelho et al. 2010), Australia (Plain et al. 2014), Italy (Atilli et

al. 2011; Galiero et al. 2015), Germany (Stau et al. 2012), Canada (Bauman et al. 2017), Mexico (Ponce Barraza et al. 2017; Morales-Pablos et al. 2020), Uruguay (Giannitti et al. 2018), Colombia (Hernández-Agudelo et al. 2021), Iran (Pourmahdi Borujeni et al. 2021), and China (Zhao et al. 2021). In Brazil, studies on the infection in sheep are still limited, being described in Paraíba by Oliveira et al. (2010) and Medeiros et al. (2012), demonstrating that epidemiological data on the disease are still scarce in the country and in the Northeast region, where the majority of these animals are found.

The state of Pernambuco (PE) is the second largest producer of sheep in the country and there are no records of *Map* infection in small ruminants, particularly in sheep. Therefore, the presence of this agent in the herds can generate serious economic impacts and influence the sanitary and epidemiological conditions of sheep farming in the state, considering that the identification of *Map* in ruminants in the state has already been reported in cattle Mota et al. 2007; Sá et al. 2013), buffaloes (Mota et al. 2010) and in milk and cheese samples from cattle (Albuquerque et al. 2017; Albuquerque et al. 2019). This shows that the agent circulates in herds in the state, which can contribute to the loss of productivity of sheep herds.

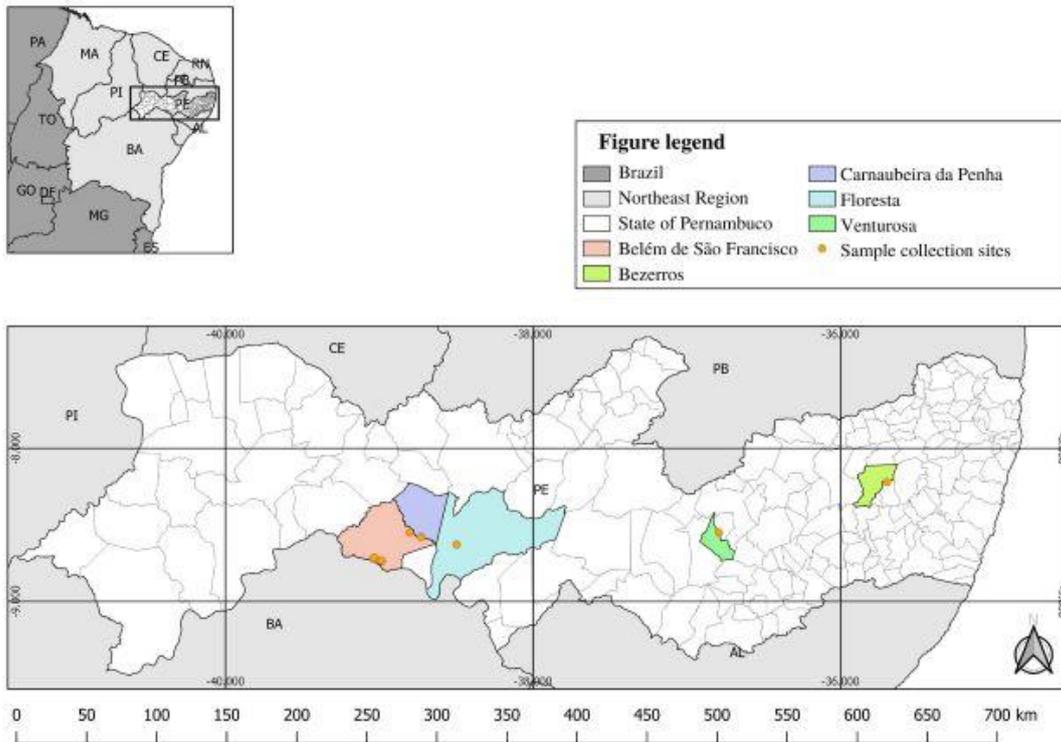
Based on the importance of the disease in cattle and buffaloes in the state and knowing that the agent can also affect small ruminants along with the scarcity of epidemiological data in the country, the economic losses related to paratuberculosis in sheep species, and the impacts of limited control of this infection, particularly in Northeastern Brazil, this research aimed to realize the diagnosis of *Map* infection in sheep in the state of Pernambuco, Brazil.

## **Materials and methods**

### *Serum samples and study area*

To select the properties, non-probabilistic convenience sampling. The properties are located in two mesoregions of the state of Pernambuco: São Francisco Pernambucano and Agreste Pernambucano – Brazil (Figure 1). The state of Pernambuco has a sheep herd of 3.435.530 heads (Brasil, 2021), representing the second national place in sheep farming, which is mainly used for

the consumption of meat. The municipalities where the properties of the study are located correspond to approximately 10% of the sheep herd in the state of Pernambuco.



**Fig.1** Distribution of biological samples from sheep collection sites in the state of Pernambuco, Brazil

Was determined a minimum sampling of 266 animals according to the expected prevalence of *Map* infection in sheep of 54.08% (Medeiros et al. 2012), considering a 95% confidence level and a statistical error of 6% (Thrusfield 2004). Were sampled 20% of the animals from herds with 150 to 200 sheep (approximately 30 to 40 sheep per herd), but some properties had a small sheep farm and thus the sampling was made in all the animals of the herd. Selected females and adult males of reproductive age (> 2 years) as inclusion criteria for the animals in the study.

There was no history of *Map* infection in the sheep herds analyzed and none of the sampled animals presented visible clinical signs of paratuberculosis; the type of management used

was semi-intensive and extensive, being reproduction and beef sheep. In some properties, sheep were raised together with goats.

A total of 276 blood serum samples and 261 sheep fecal samples were collected. Blood serum was collected via venipuncture of the jugular vein, and fecal samples were collected directly from the rectal ampoules of the animals. However, there was not enough biological material (feces) in 15 sheep during collection, in the properties where all the sheep were sampled. All the samples were properly identified and stored for transport in isothermal boxes containing recyclable ice until processing in the laboratory. Blood samples were centrifuged at  $1700 \times g$  for 15 min to obtain serum for subsequent serological examinations. Fecal samples were refrigerated at 8°C to avoid the invariability of the possible mycobacteria present in the feces. They were kept this way until the bacterial isolation occurred immediately after the arrival of the materials in the laboratory.

#### *Serological analysis (ELISA)*

The sera were submitted to the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting anti-*Map*, using IDEXX Paratuberculosis Screening kit®, following the manufacturer's instructions. The material used was maintained at 20–25°C until the beginning of the test. The test uses an anti-ruminant IgG conjugate responsible for detecting the presence of IgG immunoglobulins, as well as positive and negative controls for the specific kit. The optical density (OD) for reading at the end of the test was 450 nm, in which the diagnostic relevance was observed by comparing the OD of the sera tested with the OD of the positive and negative control of the kit used. Optical density readings lower than or equal to 45% were classified as negative results, and densities between 45% and 55% suspected and above or equal to 55% were considered positive results for *Map*. The test used has a sensitivity of 80% and specificity of >99%.

#### *Decontamination of feces and bacterial cultivation*

The fecal samples were decontaminated for subsequent isolation of the *Mycobacterium* following the methodology described by Stabel (1997), where 2 g of feces were weighed and

subsequently diluted in a Falcon tube containing 20 mL of sterile distilled water for horizontal homogenization for 30 min. After this process, the tubes with feces were sedimented for 30 min, then 5 mL of the supernatant was added to Falcon tubes containing 25 mL of hexadecyl pyridinium chloride at 0.9% for overnight decontamination and kept at 20–25°C.

The next day, after 16–18 h of decontamination, the tubes were centrifuged at  $1700 \times g$  for 20 min. The supernatant was discarded, and the formed sediment was suspended in 1 mL of an antimicrobial solution containing sterile distilled water with 150  $\mu\text{L}$  of amphotericin B (150  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) and 50  $\mu\text{L}$  of vancomycin (50  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ). Subsequently, 100  $\mu\text{g}$  of this suspension was inoculated in tubes with Middlebrook 7H9 medium with the addition of bacteriological Agar (1.5%), Oleic Albumin Dextrose Catalase (OADC) (10%), and glycerol (0.2%) with and without the presence of Mycobactin J (2 mg/L). The tubes were kept at 37°C for up to 6-8 months for observation of colonies suggestive of *Map*.

#### *Molecular Analysis*

According to the manufacturer's recommendations, DNA extraction from fecal samples (0.25 g) was performed using the nucleon spin tissue DNA extraction kit (Machererey - Nagel®).

The extracted DNA and the positive and negative controls of *Map* were submitted to amplifications, through a final volume for reaction of 15  $\mu\text{L}$ , containing 0.5  $\mu\text{L}$  of specific primers for *Map* IS900 to 20 pMol (DF: DF:5'-GACGACTCGACCGCTAATTG-3' and DR-1:5'-CCGTAACCGTCATTGTCCAG-3'), 2.75  $\mu\text{L}$  of ultrapure Mili-Q water, 6.25  $\mu\text{L}$  of MasterMix (mixture for PCR - Promega®), and 5  $\mu\text{L}$  of genomic DNA. The thermal profile of the reactions was performed in an XP Thermal Cycler thermocycler (Bioer Technology CO. LTD) with an initial denaturation at 96°C for 5 min, followed by 35 cycles of denaturation at 95°C for 1 min, annealing at 62°C for 1 min and extension at 72°C for 1 min, and a final extension of 72°C for 10 min (Stabel 1997). The 99bp amplified product corresponding to *Map* DNA was verified using electrophoresis in 2% agarose gel, stained with Bluegreen, and visualized under ultraviolet light and photo-documented.

## Results

A total of 0.72% ( $n = 2/276$ ) of the 276 serum samples analyzed were positive for anti-*Map* antibodies. Three of the samples, 1.08% ( $n = 3/276$ ), were considered suspicious in the ELISA test and belonged to two properties, however, because they were suspicious, they were not considered positive in this research. The result per property showed that only 20% ( $n = 2/10$ ) of the herds had anti-*Map* antibodies (table 1) with individual percentages of 2.94 and 2.85%. No colonies suggestive of *Map* were observed through bacterial isolation in the 261 processed fecal samples during the analyzed period, as well as in the molecular analysis, the DNA of *Map* was not detected.

**Table 1** Distribution of the properties and results of serological analysis for the research on anti-*Map* antibodies from sheep in the state of Pernambuco, Brazil

Property	Municipality	Anti- <i>Map</i> % (Antibody)
1	Bezerros - PE	0 (0/27)
2	Belém de São Francisco - PE	0 (0/37)
3	Belém de São Francisco - PE	0 (0/40)
4	Belém de São Francisco - PE	0 (0/31)
5	Belém de São Francisco - PE	0 (0/13)
6	Belém de São Francisco - PE	2.94 (1/34)
7	Floresta - PE	0 (0/17)
8	Venturosa - PE	2.85 (1/35)
9	Belém de São Francisco - PE	0 (0/31)
10	Carnaubeira da Penha - PE	0 (0/11)
TOTAL	-	0.72 (2/276)

## Discussion

The presence of anti-*Map* antibodies in sheep observed in this study may indicate that

there was exposure to the etiologic agent that causes paratuberculosis. However, the non-observation of colonies suggestive of *Map* in bacterial culture and the non-detection of *Map* DNA in PCR may suggest that the animals did not excrete the agent in the feces and have a lower receptivity to *Map* compared to other ruminant species (Idris et al. 2021; Windsor 2015).

It is important to highlight that in sheep the clinical observation of the disease is not evident, so the identification of positive animals within the herd is difficult and challenging, even using several types of different diagnostic techniques (Idris et al. 2021; Windsor and Whittington 2020). Therefore, the results of this research are important findings to understand the epidemiological behavior of the disease because there is no epidemiological data on *Map* infection in sheep in the region and the occurrence of clinical signs in the species is less frequent. The low susceptibility of sheep to *Map* or the subclinical phase in which there is no elimination of the agent may cause a variation in the sensitivity of the diagnostic tests, which could explain the divergence of results in ELISA, fecal culture, and PCR observed in this study (Gillan et al. 2010; Facciuolo et al. 2023).

Similar prevalence in sheep has also been reported in serological analyses from other countries such as the West Indies (2.3%;  $n = 11/479$ ) (Kumthekar et al. 2013), Tanzania (0%;  $n = 0/191$ ) (Mpenda and Buza 2014), Serbia (3.3%;  $n = 66/2000$ ) (Vidic et al. 2014), Uruguay (1.2%;  $n = 3/244$ ) (Giannitti et al. 2018), Tunisia (3.25%;  $n = 11/338$ ) (Khbou et al. 2020), Iran (6.7%;  $n = 39/568$ ) (Pourmahdi Borujeni et al. 2021) and Colombia (8.0%;  $n = 35/456$ ) (Hernández-Agudelo et al. 2021). Variations in the results of ELISA for detecting anti-*Map* antibodies can be attributed to the long interval of humoral immune response of infected sheep and the variability of antigens in commercial ELISA kits used in each country (Elsohaby et al. 2021; Idris et al. 2021).

In the state of Pernambuco, Brazil, *Map* has already been identified by Mota et al. (2007) and Sá et al. (2013) in cattle and by Mota et al. (2010) in buffaloes. Given this, it is important to highlight that the association of greater susceptibility to *Map* and risk factors associated with paratuberculosis in cattle and buffaloes in the herds studied by these authors may have contributed to better identification of cases of *Map* infection in these species. However, during sampling,

sheep breeding in association with other ruminants, but goats, was not reported. The interaction between sheep and cattle may contribute to an increase in the occurrence of cases of paratuberculosis in small ruminants since the *Map* strains with the highest occurrence in cattle also occur in sheep (Zhao et al. 2021). However, the virulence of these strains and the susceptibility in sheep to the clinical presentation of the disease may present differently from cattle, affecting the results of diagnostic tests (Stevenson et al. 2002; Windsor 2015).

According to Nielsen et al. (2002), the term infection suggests that sheep carry *Map* intracellularly, however, its replication may not occur in latent infections. Once in contact with the agent, the triggering of an immune response occurs and can last for the entire life of the animal.

Regarding the amount of agent present in the feces, depending on the chronic stage of the infection, mycobacteria may not be excreted or the amount excreted is small. However, the humoral immune response in these animals may vary, and anti-*Map* antibodies may or may not be observed (Nielsen and Toft 2008; Windsor 2015). Furthermore, to carry out the bacterial culture and PCR tests, there is a process of fecal decontamination and DNA extraction, so the amount of *Map* can decrease even more during these processes (Souza et al. 2018), minimizing the chances of positive results in these two tests.

In the study conducted by Medeiros et al. (2012) in the region of Paraíba, a Brazilian state neighboring the state of Pernambuco, the prevalence found in the region through the ELISA test performed in asymptomatic sheep herds for paratuberculosis was 54.08%. However, even with high prevalence, bacterial isolation in fecal samples of these animals was only verified in eight sheep, demonstrating the difficulty in the cultivation of mycobacteria in the species. The contact with other ruminants such as cattle, and the intensive rearing system through the confinement of the animals, favoring greater contact with contaminated feces are other important risk factors that the authors attributed to the high seroprevalence in the region analyzed.

It is noteworthy that the semi-intensive to extensive farming system observed on the properties allows many sheep to be raised free. This practice, associated with herd management and property location, may also limit contact between different herds and animal species, causing less exposure to feces contaminated with the agent (Hernández-Agudelo et al. 2021). The climate

of the region can also interfere with exposure to the etiological agent because in the region, where the samples were collected, the predominant climate is semi-arid to arid and this can affect the survival of mycobacteria in the environment since *Map* presents low resistance when exposed to the sun (Timms et al. 2011).

The use of biosecurity practices can reduce the risk of infection of the herd because a single sick animal is sufficient to infect and disseminate the microorganism intra- and inter-herds. Therefore, in the properties where there is no record of animals with clinical signs of paratuberculosis, preventive measures with combined and continued diagnostic tests are important to verify herd exposure to the agent and infection status (Morales-Pablos et al. 2020; Hernández-Agudelo et al. 2021). As in cattle, the presence of *Map* in sheep herds can contribute to serious economic losses, mainly related to subclinical disease (Windsor 2015].

Paratuberculosis is considered a risk for sheep farming because of the economic losses generated, the epidemiological importance of subclinical disease, and the possible zoonotic character of the infection. The consumption of meat from these animals is a common practice in the region; therefore, it is important to highlight that the agent has already been identified in sheep milk in Italy (Hosseiniporgham et al. 2020) and in milk and cheese samples from cattle in the state of Pernambuco, Brazil (Albuquerque et al. 2017; Albuquerque et al. 2019).

The ELISA serological test was able to identify positivity in about 20% of the herds analyzed, despite the non-identification and isolation of *Map* in the feces of the sheep analyzed. The herds can be considered a focus of infection, demonstrating the importance of performing the test to identify focus and subclinical cases, serving as an epidemiological alert for the exposure of *Map* in sheep in the state of Pernambuco, Brazil.

## **Conclusions**

The first recorded occurrence of the *anti-Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* antibodies in sheep in the state of Pernambuco, Brazil. Considering that the etiological agent may present a zoonotic potential and that economic losses may be associated with subclinical infections of the species, the results of this research offer subsidies for the knowledge of the

epidemiology of *Map* infection in sheep in the region. Consequently, the serological results contributed to the observation of 20% of herds with a focus on infection. In addition, serological monitoring can contribute to the observation of the behavior of the agent in the herds. Therefore, the results of this research provide support for the important potential risk of *Map* infection in sheep in the state.

### Data availability

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

### References

- Albuquerque PPF, Cezar RDS, Pinheiro Junior JW, Nascimento GG, Santos AS, Mota RA (2019) Occurrence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in coalho cheese in the State of Pernambuco, Brazil. *Arq Bras Med Vet e Zootec* 71(6):1917-1921. <https://doi:10.1590/1678-4162-10754>.
- Albuquerque PPF, Santos AS, Souza Neto OL et al (2017) Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in bovine milk from the state of Pernambuco, Brazil. *Brazil J Microbiol* 48(1):113-117. <https://doi:10.1016/j.bjm.2016.10.010>.
- Atili, RA, Victor NN, Silvia P, Luciana P, Anastasia D, Vincenzo C (2011) Ovine paratuberculosis: a seroprevalence study in dairy flocks reared in the Marche region, Italy. *Vet Med Int* 2011. <https://doi:10.4061/2011/782875>.
- Bauman CA, Jones-Bitton A, Ahlstrom C et al (2017) Identification of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* strains isolated from dairy goats and dairy sheep in Ontario, Canada. *Can J Vet Res* 81(4):304-307.
- Brasil. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2021). Pesquisa da Pecuária Municipal. <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>. Accessed 02 July 2023.
- Bush R, Windsor P, Toribio JA (2006) Losses of adult sheep due to ovine Johne's disease in 12

infected flocks over a 3-year period. *Aust Vet J* 84(7):246-253. <https://doi:10.1111/j.1751-0813.2006.00001.x>.

Chaubey KK, Singh SV, Gupta S et al (2017) *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* – An important food-borne pathogen of high public health significance with special reference to India: An update. *Vet Q* 37(1):282-299. <https://doi:10.1080/01652176.2017.1397301>.

Coelho AC, Pinto ML, Coelho AM, Aires A, Rodrigues J (2010) A seroepidemiological survey of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep from North of Portugal. *Pesq Vet Bras* 30:903-908. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010001100001>.

Davis WC, Kuenstner JT, Singh SV (2017) Resolution of Crohn's (Johne's) disease with antibiotics: what are the next steps? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 11(5):393-396. <https://doi:10.1080/17474124.2017.1300529>.

Elsohaby I, Fayez M, Alkafafy M et al (2021) Serological and molecular characterization of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) from sheep, goats, cattle and camels in the Eastern Province, Saudi Arabia. *Animals* 11(2):1-11. <https://doi:10.3390/ani11020323>.

Espescht IF, Carvalho IA, Oliveira JF, Souza MCC, Valêncio A, Ferrari MLA, Moreira MAS (2017) Risk Factors for the Presence of *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* in Human Intestinal Biopsies in Brazil. *Austin J Gastroenterol* 4(2):1083. <https://doi.org/10.26420/austinjgastroenterol.2017.1083>.

Espescht IF, Souza MCC, Lima MC, Moreira MAS (2018) First molecular typing of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* identified in animal and human drinking water from dairy goat farms in Brazil. *Brazil J Microbiol* 49(2):358-361. <https://doi:10.1016/j.bjm.2017.06.005>.

Facciuolo A, Kelton DF, Mutharia LM (2013) Novel secreted antigens of *Mycobacterium paratuberculosis* as serodiagnostic biomarkers for Johne's disease in cattle. *Clin Vaccine Immunol* 20(12):1783-1791. <https://doi:10.1128/CVI.00380-13>.

Galiero A, Fratini F, Mataragka A, et al (2016) Detection of *Mycobacterium avium* subsp.

- paratuberculosis* in cheeses from small ruminants in Tuscany. *Int J Food Microbiol* 217:195-199. <https://doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.10.029>.
- Galiero A, Fratini F, Turchi B, Colombani G, Nuvoloni R, Cerri D (2015) Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in a sheep flock in Tuscany. *Trop Anim Health Prod* 47(8):1567-1571. <https://doi:10.1007/s11250-015-0899-z>.
- Gautam M, Ridler A, Wilson PR, Heuer C (2018) Control of clinical paratuberculosis in New Zealand pastoral livestock. *N Z Vet J* 66(1):1-8. <https://doi:10.1080/00480169.2017.1379914>.
- Giannitti F, Fraga M, Caffarena RD et al (2018) *Mycobacterium paratuberculosis* sheep type strain in Uruguay: Evidence for a wider geographic distribution in South America. *J Infect Dev Ctries* 12(3):190-195. <https://doi:10.3855/jidc.9751>.
- Gillan S, O'Brien R, Hughes AD, Griffin JFT (2010) Identification of immune parameters to differentiate disease states among sheep infected with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Clin Vaccine Immunol* 17(1):108-117. <https://doi:10.1128/CVI.00359-09>.
- Hernández-Agudelo M, Collado B, Tejada C, Ramírez-Vásquez NF, Fernández-Silva JA, Salgado MA (2021) Prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Infection in Sheep Flocks from Three Regions of Antioquia, Colombia. *Austral J. Vet. Sci* 53(2):83-90. <https://doi.org/10.4067/S0719-81322021000200083>.
- Hosseini-porgham S, Cubeddu T, Rocca S, Sechi LA (2020) Identification of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) in Sheep Milk, a Zoonotic Problem. *Microorganisms* 8(9):1264. <https://doi:10.3390/MICROORGANISMS8091264>.
- Idris SM, Eltom KH, Okuni JB et al (2021) Paratuberculosis: The Hidden Killer of Small Ruminants. *Anim an open access J from MDPI* 12(1):12. <https://doi:10.3390/ANI12010012>.
- Khbou MK, Romdhane R, Sassi L, Amami A, Rekik M, Benzarti M (2020) Seroprevalence of anti-*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* antibodies in female sheep in Tunisia. *Vet Med Sci* 6(3):393-398 <https://doi:10.1002/vms3.243>.

- Kumthekar S, Manning EJB, Ghosh P, Tiwari K, Sharma RN, Hariharan H (2013) *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* confirmed following serological surveillance of small ruminants in Grenada, West Indies. J Vet Diagn Investig Inc 25(4):527-530. <https://doi:10.1177/1040638713490688>.
- MAFRA. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. Ontario: Johne's disease in sheep, 2023. <https://www.ontario.ca/page/johnes-disease-sheep>. Accessed 22 July 2023.
- Mainar-Jaime RC, Vázquez-Boland JA (1998) Factors associated with seroprevalence to *Mycobacterium paratuberculosis* in small-ruminant farms in the Madrid region (Spain). Prev Vet Med 34(4):317-327. [https://doi:10.1016/S0167-5877\(97\)00091-3](https://doi:10.1016/S0167-5877(97)00091-3).
- McGregor H, Abbott KA, Whittington RJ (2015) Effects of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection on serum biochemistry, body weight, and wool growth in Merino sheep: A longitudinal study. Small Rumin Res 125:146-153. <https://doi:10.1016/J.SMALLRUMRES.2015.02.004>.
- Medeiros JMA, Junior FG, Almeida AP, Lucena EA, Riet-Correa F (2012) Paratuberculose em caprinos e ovinos no Estado da Paraíba. Pesq Vet Bras 32(2):111-115. <https://doi:10.1590/S0100-736X2012000200003>.
- Michel AL, Bastianello SS (2000) Paratuberculosis in sheep: An emerging disease in South Africa. Vet Microbiol 77(3-4):299-307. [https://doi:10.1016/S0378-1135\(00\)00315-1](https://doi:10.1016/S0378-1135(00)00315-1).
- Morales-Pablos MI, Mejía-Sánchez P, Díaz-Aparicio E et al. (2020) Risk factors associated with the seroprevalence of paratuberculosis in sheep flocks in the hot-arid region of Sonora, México. Trop Anim Health Prod 52(3):1357-1363. <https://doi:10.1007/s11250-019-02139-y>.
- Mota RA, Peixoto PV, Yamasaki EM et al (2010) Ocorrência de paratuberculose em búfalos (*Bubalus bubalis*) em Pernambuco. Pesq Vet Bras 30(3):237-242. <https://doi:10.1590/S0100-736X2010000300008>.
- Mota RA, Pinheiro Junior JW, Gomes M et al (2007) Paratuberculose Em Um Rebanho Bovino Leiteiro No Estado De Pernambuco, PE. Arq Inst Biol (Sao Paulo) 74(2):73-79. [http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v74\\_2/mota.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v74_2/mota.pdf).

- Mpenda FN, Buza J (2014) Seroprevalence of paratuberculosis in goats and sheep in Arusha, Northern Tanzania. *Int J Sci Res* 3(9):2319-7064.
- Nielsen SS, Toft N (2008) Ante mortem diagnosis of paratuberculosis: a review of accuracies of ELISA, interferon-gamma assay and faecal culture techniques. *Vet Microbiol* 129(3-4):217-235. <https://doi:10.1016/j.vetmic.2007.12.011>.
- Nielsen, SS, Grønbaek, C, Agger, J F, Houe, H (2002) Maximum-likelihood estimation of sensitivity and specificity of ELISAs and faecal culture for diagnosis of paratuberculosis. *Prev Vet Med* 53(3):191-204. [https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(01\)00280-x](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(01)00280-x).
- Oliveira DM, Riet-Correa F, Galiza GJN et al (2010) Paratuberculosis in goats and sheep in Brazil. *Pesqui Vet Bras* 30(1):67-72. <https://doi:10.1590/s0100-736x2010000100011>.
- Plain KM, Marsh IB, Waldron AM et al (2014) High-throughput direct fecal PCR assay for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep and cattle. *J Clin Microbiol* 52(3):745-757. <https://doi:10.1128/JCM.03233-13>.
- Ponce Barraza E, Cárdenas Reyna T, Angulo C et al (2017) Evaluation of two in-house immunoenzymatic tests to serodiagnose subclinical paratuberculosis in a sheep flock in Mexicali Valley, Mexico. *J Immunoass Immunochem* 38(4):420-429. <https://doi:10.1080/15321819.2017.1319862>.
- Pourmahdi Borujeni M, Haji Hajikolaei MR, Ghorbanpoor M, Elhaei Sahar H, Bagheri S, Roveyshedzadeh S (2021) Comparison of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in cattle, sheep, and goats in the Khuzestan Province of Iran: Results of a preliminary survey. *Vet Med Sci* 7(5):1970-1979. <https://doi:10.1002/vms3.559>.
- Sá LDM, Oliveira JMB, Santos GR et al (2013) Avaliação sorológica e de fatores de risco para a infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em rebanhos. *Pesq Vet Bras* 33(3):310-313. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000300006>.
- Sardaro R, Pieragostini E, Rubino G, Petazzi F (2017) Impact of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* on profit efficiency in semi-extensive dairy sheep and goat farms of Apulia, southern Italy. *Prev Vet Med* 136:56-64. <https://doi:10.1016/j.prevetmed.2016.11.013>.

- Sergeant, ESG, Marshall, DJ, Eamens, GJ, Kearns, C, Whittington, RJ (2003) Evaluation of an absorbed ELISA and an agar-gel immuno-diffusion test for ovine paratuberculosis in sheep in Australia. *Prev Vet Med* 61(4):235-248. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2003.08.010>.
- Souza GDS, Rodriguez ABF, Romano MI et al (2018) Identification of the apa protein secreted by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* as a novel fecal biomarker for Johne's disease in cattle. *Pathog Dis* 76(6):fty063. <https://doi:10.1093/femspd/fty063>.
- Stabel JR (1997) An improved method for cultivation of *Mycobacterium paratuberculosis* from bovine fecal samples and comparison to three other methods. *J Vet Diagn Invest* 9:375-380.
- Stau A, Seelig B, Walter D, Schroeder C, Ganter M (2012) Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in small ruminants in Germany. *Small Rumin Res* 105(1-3):361-365. <https://doi:10.1016/J.SMALLRUMRES.2012.03.008>.
- Taddei R, Barbieri I, Pacciarini ML, Fallacara F, Belletti GL, Arrigoni N (2008) *Mycobacterium porcinum* strains isolated from bovine bulk milk: Implications for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* detection by PCR and culture. *Vet Microbiol* 130(3-4):338-347. <https://doi:10.1016/j.vetmic.2008.02.007>.
- Thrusfield M (2004) *Epidemiologia Veterinária*. 2nd ed. Roca.
- Timms VJ, Gehringer MM, Mitchell HM, Daskalopoulos G, Neilan BA (2011) How accurately can we detect *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection? *J Microbiol Methods* 85(1):1-8. <https://doi:10.1016/j.mimet.2011.01.026>.
- Vidic B, Grgic Z, Jovicin M et al (2014) Prevalence of paratuberculosis infection in sheep. *Vet Glas* 68(3-4):165-174. <https://doi:10.2298/vetgl1404165v>.
- Waddell L, Rajić A, Stärk K, McEwen SA (2016) *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* detection in animals, food, water and other sources or vehicles of human exposure: A scoping review of the existing evidence. *Prev Vet Med*. 132:32-48. <https://doi:10.1016/j.prevetmed.2016.08.003>.
- Whittington R, Donat K, Weber MF et al. (2019) Control of paratuberculosis: Who, why and

how. A review of 48 countries. *BMC Vet Res* 15(1):198. <https://doi:10.1186/s12917-019-1943-4>.

Windsor P, Whittington R (2020) Ovine Paratuberculosis Control in Australia Revisited. *Anim an Open Access J from MDPI* 10(9):1623. <https://doi:10.3390/ANI10091623>.

Windsor PA (2015) Paratuberculosis in sheep and goats. *Vet Microbiol* 181(1-2):161-169. <https://doi:10.1016/j.vetmic.2015.07.019>.

WOAH (2021) World Organization for Animal Health. Chapter 3.1.15 - Paratuberculosis (Johnes disease). In: *Terrestrial Manual*. 1-15. [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.01.15\\_PARATB.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.15_PARATB.pdf)  
Accessed 03 July 2023

Zhao L, Wang Y, Wang JL et al (2021) Serological investigation and genotyping of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep and goats in Inner Mongolia, China. *PLoS One* 16:e0256628. <https://doi:10.1371/journal.pone.0256628>.

## **Funding**

This study was supported by a grant from the Foundation for Support of Science and Technology of Pernambuco (FACEPE).

## **Acknowledgments**

We wish to thank Dra. Maria Aparecida Scatamburlo Moreira and the Bacterial Diseases Laboratory of the Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil for their technical assistance. We would like to thank Editage ([www.editage.com](http://www.editage.com)) for English language editing.

## **Contributions**

Conceptualization: Amanda de Noronha Xavier, Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira; Methodology: Luenda Menezes Novaes de Sá, Maria de Nazaré Santos Ferreira, Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira; Formal analysis and investigation: Amanda de Noronha Xavier, Maria de Nazaré Santos Ferreira; Writing - original draft preparation: Amanda de Noronha Xavier, Luenda

Menezes Novaes de Sá; Writing - review and editing: Rodolfo de Moraes Peixoto, José Wilton Pinheiro Junior, Rinaldo Aparecido Mota; Supervision: Rodolfo de Moraes Peixoto, José Wilton Pinheiro Junior, Rinaldo Aparecido Mota. All authors read and approved the final manuscript.

### **Ethics Approval**

This study was obtained from ethical approval of the Ethics Committee on Animal Use (CEUA) of the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE) by Resolution 436/2005 of Process No. 23.082.007990/2019-68 (License No. 035/2019).

### **Consent to participate**

Not applicable.

### **Consent to publish**

Not applicable.

### **Conflict of interest**

The authors declare no conflict of interest.

## CAPÍTULO 2

**Artigo 2: Prevalência global da infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) em ovinos: Revisão sistemática e Meta-análise**

Artigo será submetido à Revista Research in Veterinary Science

## **Prevalência global da infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) em ovinos: Revisão sistemática e Meta-análise**

### **Resumo**

Realizou-se uma revisão sistemática e meta-análise da prevalência da infecção por *Map* em ovinos no mundo. A pesquisa foi composta por seis bases de dados que retornaram 713 artigos que foram incluídos para pré-seleção com bases nos critérios de inclusão estabelecidos. Após a leitura dos títulos e resumos, foram selecionadas 87 publicações, dessas 19 foram incluídas na revisão. A leitura das referências bibliográficas dos artigos possibilitou a inclusão de mais três publicações, totalizando 22 artigos. A meta-análise foi realizada seguindo o modelo aleatório e tendo como base os valores de prevalência bruta encontrada em cada estudo, onde se constatou uma prevalência geral de 8.79% (IC 95%, 4.89–13.66). Os valores de prevalência foram separados por região (continentes e países), sendo observada alta heterogeneidade ( $I^2 = 99\%$ ) e diferença significativa entre as regiões ( $p = 0.0319$ ). A América do Sul foi o continente com a prevalência mais elevada (28.60%, IC 95%, 6.56 – 58.29,  $I^2 = 99\%$ ) e a África o continente com a menor prevalência (1.07%, IC 95%, 0.00 – 6.36,  $I^2 = 91\%$ ), enquanto o teste de diagnóstico mais utilizado para determinar as prevalências foi o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) (11.19%, IC 95%, 4.75% - 19.87%). Para analisar possíveis vieses de publicação, o teste de Egger foi realizado e foi observado viés significativo ( $p = 0.0244$ ), demonstrando que há alta variabilidade entre os efeitos de prevalências e nos dados dos estudos selecionados. Conclui-se com essa pesquisa que há disseminação mundial da infecção por *Map* em ovinos e dessa forma a implementação de programas de controle da doença nos locais onde ainda não existem pode reduzir prevalências e conseqüentemente reduzir os prejuízos econômicos causados pela paratuberculose ovina em rebanhos ovinos nos diferentes continentes do mundo.

### **Introdução**

*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) é o agente causador da paratuberculose, que pode causar uma enterite crônica que afeta ruminantes e possui distribuição mundial (Timms *et al.*, 2011; WOA, 2021). A paratuberculose ocasiona diversos prejuízos econômicos por ser uma doença de caráter subclínico e crônico, dificultando o diagnóstico e controle do agente (Garcia; Shalloo, 2015; Rasmussen *et al.*, 2021). Apesar de ainda não ser considerada zoonose, a presença de *Map* já foi descrita

em amostras de leite e queijo (Chaubey *et al.*, 2017) e em pacientes humanos portadores da doença de Crohn (Eslami *et al.*, 2019), sugerindo um risco à população caso seja confirmada essa associação (Barkema *et al.*, 2018).

Os ovinos podem ser acometidos por *Map*, no entanto, a doença se apresenta ainda mais silenciosa, já que esses animais possuem susceptibilidade menor a presença de sinais clínicos comparada a bovinos (Stewart *et al.*, 2007). Contudo, quando presente no rebanho pode acarretar altos custos econômicos para os criadores de ovinos (Idris *et al.*, 2021).

As perdas relativas à infecção por *Map* nos rebanhos aumentam quando há maior prevalência de *Map* e incidência de casos clínicos da doença (Garcia e Shalloo, 2015). As perdas anuais associadas à paratuberculose na ovinocultura já foram avaliadas em 16,5 milhões de libras esterlinas no Reino Unido (Ashworth; Gunn, 2001) e de US\$ 1,5 por ovelha infectada na Nova Zelândia (Whittington *et al.*, 2019).

Alguns países como Austrália, Canadá e EUA utilizam a vacinação como método preventivo e programas de controle da paratuberculose para minimização dos danos causados pela enfermidade, pois a doença é considerada um problema sanitário (Reddacliff *et al.*, 2006; Windsor, 2015). Contudo, o não cumprimento dos protocolos de manejo estabelecidos nos rebanhos para controle da doença podem ser barreiras que dificultem a realização desses programas (Barkema *et al.*, 2018).

Os estudos que relatam a prevalência a nível animal e rebanho de *Map* em ovinos são importantes para análise do *status* da infecção em diversas regiões e para o desenvolvimento de medidas de controle e prevenção da doença onde a prevalência é conhecida, bem como ações de vigilância em áreas onde não há conhecimento prévio da infecção (Barkema *et al.*, 2018). Além disso, também podem auxiliar no conhecimento epidemiológico da infecção em diferentes épocas e populações (Nielsen; Toft 2009; Barkema *et al.*, 2010).

No entanto, não há dados de prevalência geral da paratuberculose ovina e da sua distribuição entre os países do mundo. Diante disso, objetivou-se com este estudo revisar sistematicamente e realizar meta-análise da prevalência da infecção por *Map* em ovinos no mundo.

## **Material e Métodos**

### **Base de dados e estratégias de busca**

Para a realização dessa revisão sistemática foram seguidas as recomendações do Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) (Haddaway *et al.*, 2022). Dessa forma para identificar o maior número de publicações relatando a prevalência de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em ovinos, foram consultadas seis bases de dados eletrônicas: PubMed, Scopus, Web of Science, Bielefeld Academic Search Engine (BASE), SciELO e o Portal Regional da Biblioteca Virtual de Saúde (BVS). Em cada uma eram utilizadas estratégias de busca diferentes a partir de combinações distintas de descritores de sintaxe sobre o tema da pesquisa, já que cada plataforma de dados se utiliza de diferentes algoritmos de busca. A pesquisa foi realizada no início de março de 2023. Para qualificar a estratégia de busca foi utilizada a ferramenta Peer Review of Electronic Search Strategies (PRESS) (Mcgowan *et al.*, 2016). Os descritores para as bases de dados utilizadas estão descritos no quadro 1.

**Quadro 1:** Bases de dados e os descritores utilizados para a realização da revisão sistemática sobre a prevalência geral de paratuberculose em ovinos.

Base de dados	Descritores de sintaxe
Pubmed	(diagnosis [mh] OR prevalence [mh] OR incidence [mh] OR occurrence [tiab] OR frequency [tiab]) AND ("Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis" [mh] OR "Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis" [tiab] OR "Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis" [tiab] OR "Mycobacterium paratuberculosis" [tiab] OR "Mycobacterium avium paratuberculosis" [tiab] OR paratuberculosis [mh] OR "johnes disease" [tiab] OR "Johnes Disease" [tiab] OR "Disease, Johnes" [tiab] OR paratuberculoses [tiab]) AND (ovine [tiab] OR ovis [tiab] OR sheep [mh] OR ewe [tiab] OR sheep [tiab])
Scopus	(TITLE-ABS-KEY ("diagnosis") OR TITLE-ABS-KEY ("prevalence") OR TITLE-ABS-KEY ("incidence") OR TITLE-ABS-KEY ("occurrence") OR TITLE-ABS-KEY ("frequency")) AND TITLE-ABS-KEY ("Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis") OR TITLE-ABS-KEY ("Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis") OR TITLE-ABS-KEY ("Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis") OR TITLE-ABS-KEY ("Mycobacterium avium paratuberculosis") OR TITLE-ABS-KEY ("Mycobacterium paratuberculosis") OR TITLE-ABS-KEY ("paratuberculosis") OR TITLE-ABS-KEY ("johnes disease") OR TITLE-ABS-KEY ("Johnes Disease") OR TITLE-ABS-KEY ("Disease, Johnes") OR TITLE-ABS-KEY ("paratuberculoses") ) AND TITLE-ABS-KEY ("small ruminants") OR TITLE-ABS-KEY

	("ovine") OR TITLE-ABS-KEY ("ovis") OR TITLE-ABS-KEY ("sheep") OR TITLE-ABS-KEY ("ewe"))
Web of Science	(TS= ("diagnosis") OR TS= ("prevalence") OR TS= ("incidence") OR TS= ("occurrence") OR TS= ("frequency")) AND (TS= ("Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis") OR TS= ("Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis") OR TS= ("Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis") OR TS= ("Mycobacterium paratuberculosis") OR TS= ("Mycobacterium avium paratuberculosis") OR TS= (paratuberculosis) OR TS= ("johne's disease") OR TS= ("Johne Disease") OR TS= ("Disease, Johne") OR TS= ("paratuberculoses")) AND (TS= ("ovine") OR TS= ("ovis") OR TS= ("sheep") OR TS= ("ewe"))
Bielefeld Academic Search Engine (BASE)	
SciELO	“Prevalence” AND “Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis” AND “ovine”
Portal Regional da Biblioteca Virtual de Saúde (BVS)	

### **Crêterios de Elegibilidade**

Os cr terios de inclusão foram estudos transversais de prevalência delineados ou que apontem para a ocorrência, por métodos diagnósticos diretos e/ou indiretos (sorológicos, cultura fecal ou PCR) da infec o animal e individual por *Map* em ovinos como parte de seus resultados. Os estudos incluídos apresentavam animais sem sinais clínicos ou sem diagnóstico prévio de paratuberculose. Os tipos de publica es incluídos consistiram de artigos completos e artigos de "comunica o curta". A busca inicial se deu sem restri es quanto a quantidade amostral, ao idioma dos estudos retornados e nem ao ano de publica o.

Foram excluídos manuscritos que não discriminavam a ocorrência ou prevalência da infec o por *Map* e aqueles na forma de estudos observacionais, estudos clínicos, relatos de casos, estudos com outras espécies que não ovinos, estudos sem resultados individuais dos animais ou somente em nível de rebanho, estudos que apresentavam viés, como os realizados em rebanhos sabidamente positivos e/ou vacinados e/ou com

diagnóstico prévio de paratuberculose e os que não utilizaram como método de diagnóstico da infecção cultura fecal, testes sorológicos ou PCR para verificação do resultado, estudos dos quais o acesso era restrito em quaisquer das bases utilizadas. Após a recuperação dos manuscritos, foram selecionados aqueles publicados entre 2000 e março de 2023.

### **Seleção dos estudos e extração dos dados**

Os artigos recuperados através da pesquisa sistemática foram exportados para o *software* de gerenciamento de referências *Mendeley* para a remoção de duplicatas (Reiswig, 2010). A seleção dos estudos foi realizada de forma independente por dois pesquisadores diferentes, onde as diferenças foram decididas por consenso entre as partes. A pesquisa foi realizada seguindo as etapas de identificação, seleção, elegibilidade e critérios de inclusão.

A primeira etapa consistiu no registro do número total de artigos retornados dos termos definidos para a realização das buscas, excluindo-se manuscritos em duplicata. Na segunda etapa, procedeu-se uma triagem inicial com a leitura dos títulos e resumos dos manuscritos, excluindo-se aqueles que não continham informações de potencial interesse sobre a ocorrência de infecções por *Map* em ovinos. A triagem mais detalhada ocorreu através da leitura completa dos manuscritos, em que foi verificada a minimização de vieses de seleção de animais, afirmação adequada dos resultados, utilização dos métodos de diagnóstico, minimizando possíveis vieses nos manuscritos selecionados. Ao final da seleção dos artigos foi realizada a leitura das referências bibliográficas para verificar possíveis manuscritos que não estavam indexados nas bases de dados pesquisadas e após leitura completa dessas publicações e atendendo aos critérios de inclusão, eles foram incluídos na revisão.

Posteriormente, após a seleção final dos manuscritos, eles foram divididos em estudos, de acordo com o método de diagnóstico que utilizavam para estimar a prevalência em suas pesquisas. Os dados dos estudos foram extraídos para ajuste das estimativas de prevalência e dos resultados em termos de proporção. Os dados extraídos dos artigos selecionados foram ano de publicação, autor, número total de amostras, número de amostras positivas, teste de diagnóstico, país e continente. Todos os dados foram organizados em planilhas do Microsoft Excel®.

### **Análise estatística**

Os dados qualitativos foram analisados por meio de estatística descritiva, utilizando-se uma distribuição absoluta e relativa dos casos positivos para infecção por *Map* na espécie ovina, utilizando-se como desfecho primário os dados brutos de prevalência, com intervalo de confiança (IC) de 95%. Para o cálculo da prevalência, os artigos selecionados foram submetidos a uma meta-análise em modelo aleatório. A meta-análise foi realizada usando o programa R, versão 4.3.0 com RStudio (R Core Team, 2023) através do pacote “meta” e do comando “metaprop” (Schwarzer, 2007; Schwarzer; Carpenter; Rücker, 2015), seguindo o modelo de efeitos aleatórios proposto por DerSimonian e Laird (2015). A estimativa de prevalência de *Map* foi apresentada como uma porcentagem ((número de animais positivos/total de animais testados)\*100) e a variância foi calculada pelo método Freeman-Tukey double arcsine (Freeman; Tukey, 1950) adaptado por Barendregt *et al.* (2013).

Dessa forma, foi verificada a heterogeneidade dos estudos através do teste Q de Cochran, representado pelo teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ), com significância de  $p < 0,05$ , a magnitude da verdadeira variância foi avaliada pelo teste I-quadrado ( $I^2$ ) (Cochran, 1954; Higgins *et al.*, 2003; Borenstein *et al.*, 2017). O efeito do tamanho real dos estudos demonstrado pelo  $I^2$  varia de 0% a 100% (Borenstein *et al.*, 2017). Diante disso, para verificar fontes de heterogeneidade, uma meta-análise de subgrupo e meta-regressão foram utilizadas. Para a análise de subgrupos foram analisadas as variáveis “continente” (África, América do Norte, América do Sul, Ásia e Europa) e “método de diagnóstico”, dividido em Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), Imunodifusão em Gel Ágar (IDGA), Fixação de Complemento (FC) Cultura Fecal e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

Teste de regressão Egger foi realizado para verificar a consistência dos dados dos artigos selecionados para esta revisão sistemática (Egger; Smith, 1998; Sterne *et al.*, 2011). Esse teste consiste em uma análise de estimativa dos efeitos, considerando se há viés de publicação entre a prevalência e o número de amostras selecionadas, e é representado por um gráfico de funil do comando metabias do pacote R. Além disso, os dados de prevalência também foram usados na meta-regressão a fim de determinar se o ano de publicação influenciava a prevalência de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em ovinos. Essa análise foi demonstrada através do gráfico de bolhas do comando metareg do pacote R (Sterne *et al.*, 2011). Em todas as análises, um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

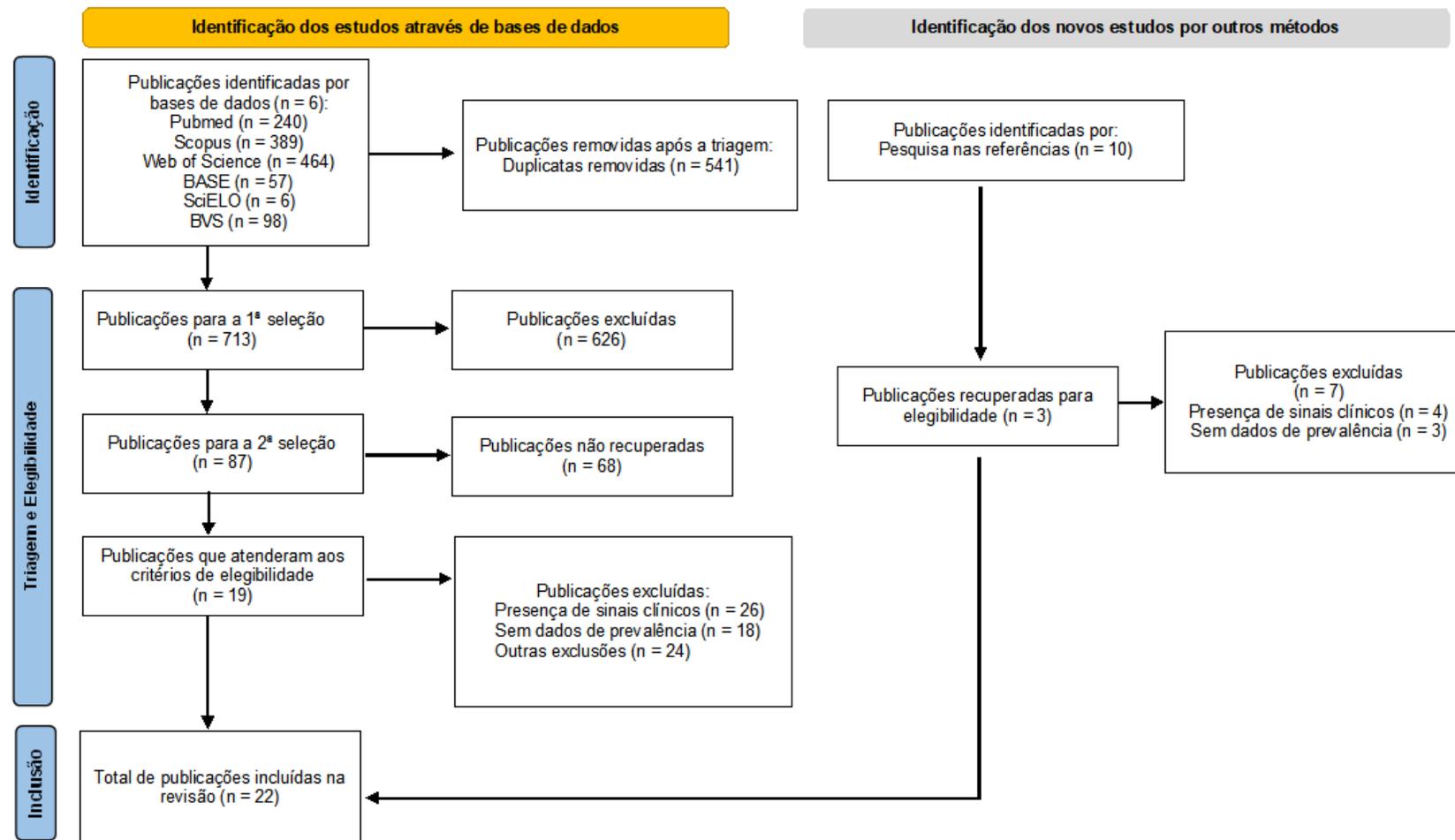
O cálculo da verdadeira prevalência de paratuberculose em ovinos não foi realizado devido à variabilidade de testes de diagnósticos e à falta de informação sobre sensibilidade e especificidade.

## **Resultados**

### **Descrição dos estudos incluídos**

Um fluxograma PRISMA (Haddaway *et al.*, 2022) foi criado para ilustrar brevemente os estudos selecionados incluídos na meta-análise (Figura 1). Após a busca nas bases de dados utilizadas um total de 1254 manuscritos foram retornados para a realização da pesquisa. Desses 541 eram duplicatas, sobrando 713 pré-selecionáveis para leitura de títulos e resumos. Após a remoção de trabalhos não elegíveis na primeira fase de seleção dos manuscritos, um total de 87 publicações foi selecionado para a segunda fase de análise. Foram excluídas 68 publicações que não atendiam aos critérios de inclusão elaborados: presença de sinais clínicos ( $n=26$ ); sem dados de prevalência da infecção em ovinos ( $n=18$ ); e outras exclusões como não utilização dos métodos de diagnóstico incluídos na pesquisa ( $n=10$ ), dados somente por rebanho ( $n=13$ ), dados de outro artigo ( $n=1$ ).

O total de 19 publicações foram recuperadas, todavia, através da revisão das listas de referências mais três manuscritos foram incluídos, totalizando 22 publicações elegíveis para a revisão sistemática e meta-análise (Figura 1). Não foram recuperadas teses e dissertações que atenderam aos critérios de elegibilidade, exceto uma tese em que os dados foram incluídos na revisão no formato de artigo científico. Dentre os 22 artigos selecionados, ocorreu a separação em estudos por método de diagnóstico estudado que por sua vez obteve três artigos com dois testes realizados e um artigo com três tipos de testes diferentes realizados na pesquisa. Diante disso, dos 22 artigos selecionados foram extraídos dados de 27 estudos incluídos nessa revisão.



**Figura 1.** Fluxograma PRISMA da seleção das publicações referentes a prevalência geral da infecção por *Map* em ovinos durante o período de 2000 a 2023.

## Prevalência

Nessa pesquisa foram analisados dados de 27 estudos selecionados entre os anos de 2000 a 2023 que contemplavam um total de 33.222 ovinos pertencentes à 18 países localizados em cinco continentes: África ( $n=2$ ), América do Norte ( $n=3$ ), América do Sul ( $n=3$ ), Ásia ( $n=5$ ) e Europa ( $n=5$ ). Essas informações foram extraídas dos 22 artigos selecionados para verificar a prevalência mundial de *Map* em ovinos no período de 2006 a 2022 (Tabela 1). A análise dos 27 estudos ocorreu por causa da ocorrência de cinco artigos com mais de um método de diagnóstico utilizado. Os métodos de diagnóstico utilizados para análise da infecção por *Map* na espécie ovina nesses estudos foram ELISA ( $n=15$ ), Cultura Fecal ( $n=5$ ), PCR ( $n=3$ ), IDGA ( $n=3$ ), FC ( $n=1$ ) (Figura 2) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Dados extraídos de todos os estudos incluídos na revisão sistemática e meta-análise sobre a prevalência da infecção por *Map* em ovinos.

Autor	Ano	Total	Positivos	Prevalência	Diagnóstico	País	Região
Al-Majali <i>et al.</i> (2008)	2008	320	57	17.81%	ELISA	Jordânia	Ásia
Attili <i>et al.</i> (2011)	2011	2086	129	6.18%	ELISA	Itália	Europa
Bauman <i>et al.</i> (2016) 1	2016	397	60	15.11%	PCR	Canadá	América do Norte
Bauman <i>et al.</i> (2016) 2	2016	397	11	2.77%	Cultura fecal	Canadá	América do Norte
Bhat <i>et al.</i> (2020)	2020	450	195	43.33%	ELISA	Índia	Ásia
Celik, Turutoglu (2017)	2017	150	72	48.00%	ELISA	Turquia	Ásia
Corti <i>et al.</i> (2022)	2022	322	96	29.81%	Cultura fecal	Chile	América do Sul
Giangaspero <i>et al.</i> (2013)	2013	267	0	0.00%	IDGA	Japão	Ásia
Hernandez-Agudelo <i>et al.</i> (2021)	2021	456	37	8.11%	ELISA	Colômbia	América do Sul
Iarussi <i>et al.</i> (2019)	2019	16903	499	2.95%	ELISA	Itália	Europa
Ikonomopoulos <i>et al.</i> (2007) 1	2007	291	16	5.50%	FC	Grécia	Europa
Ikonomopoulos <i>et al.</i> (2007) 2	2007	291	0	0.00%	Cultura Fecal	Grécia	Europa
Ikonomopoulos <i>et al.</i> (2007) 3	2007	291	15	5.15%	PCR	Grécia	Europa
Jimenez-Martin <i>et al.</i> (2022)	2022	2266	183	8.08%	ELISA	Espanha	Europa
Khamassi Khbou <i>et al.</i> (2020)	2020	338	11	3.25%	ELISA	Tunísia	África
Kostoulas <i>et al.</i> (2006) 1	2006	173	10	5.78%	ELISA	Grécia	Europa

Kostoulas <i>et al.</i> (2006) 2	2006	173	9	5.20%	Cultura fecal	Grécia	Europa
Kumthekar <i>et al.</i> (2013)	2013	479	11	2.30%	ELISA	Índias Ocidentais	América do Norte
Liapi <i>et al.</i> (2011)	2011	3429	340	9.92%	ELISA	Chipre	Europa
Medeiros <i>et al.</i> (2012)	2012	392	212	54.08%	ELISA	Brasil	América do Sul
Morales-Pablos <i>et al.</i> (2020)	2020	1178	77	6.54%	IDGA	México	América do Norte
Moron-Cedillo <i>et al.</i> (2013) 1	2013	211	20	9.48%	IDGA	México	América do Norte
Moron-Cedillo <i>et al.</i> (2013) 2	2013	211	16	7.58%	PCR	México	América do Norte
Mpenda, Buza (2012)	2012	191	0	0.00%	ELISA	Tanzânia	África
Pourmahdi Borujeni <i>et al.</i> (2021)	2021	568	39	6.87%	ELISA	Irã	Ásia
Stonos <i>et al.</i> (2017)	2017	355	24	6.76%	Cultura fecal	Canadá	América do Norte
Vidic <i>et al.</i> (2014)	2014	2000	66	3.30%	ELISA	Sérvia	Europa

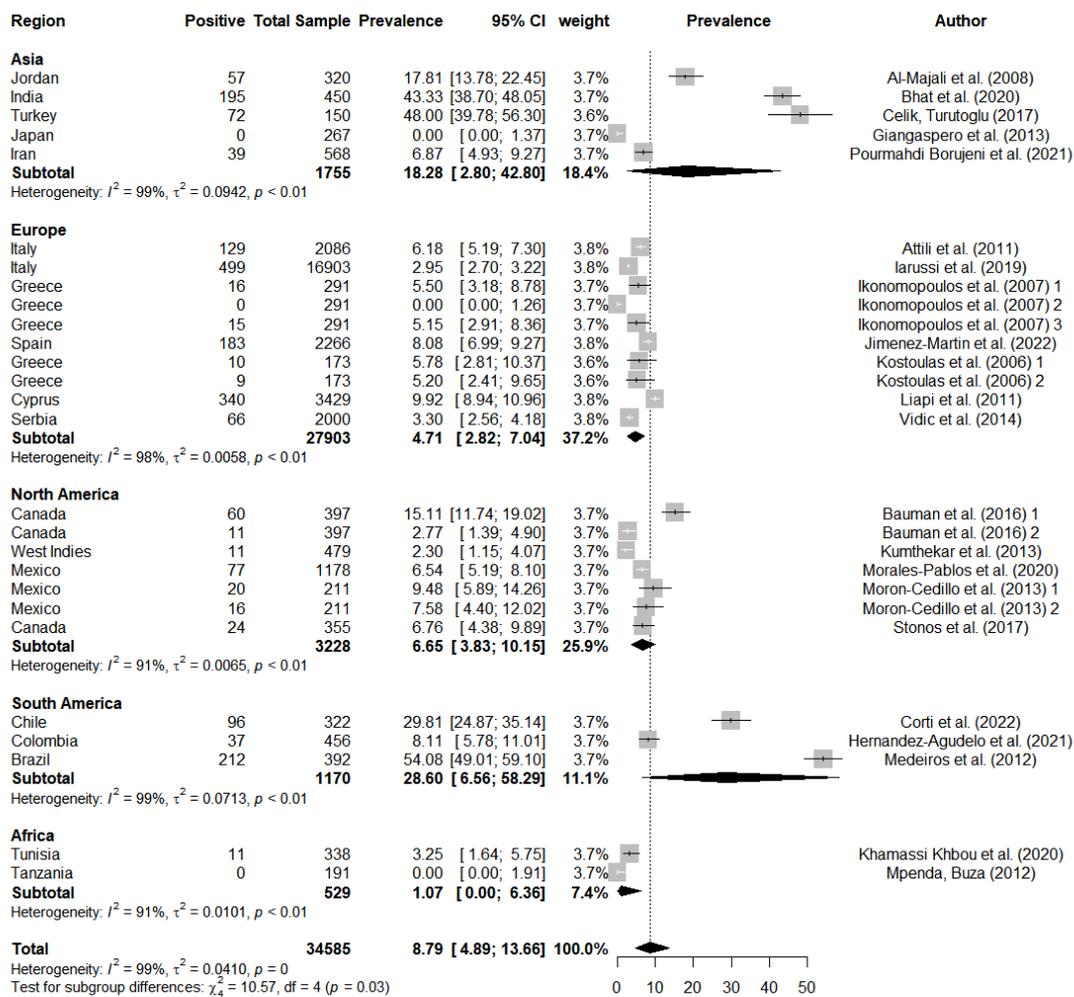
ELISA: Ensaio de Imunoabsorção Enzimática, IDGA: Imunodifusão em Gel Ágar, FC: Fixação de Complemento, PCR: Reação em Cadeia da Polimerase

Os resultados da meta-análise de modelos aleatórios para estimar a prevalência mundial de *Map* em ovinos foi 8.79% (IC 95%, 4.89–13.66), apresentando alta heterogeneidade ( $I^2 = 99\%$ ). Em relação à meta-análise por subgrupo também foi observada alta heterogeneidade nas prevalências por continente e com diferença estatisticamente significativa ( $p = 0.0319$ ) entre eles como observado na América do Sul ( $I^2 = 99\%$ ) com 28.60% (IC 95%, 6.56 – 58.29), Ásia ( $I^2 = 99\%$ ) com 18.28% (IC 95%, 2.80 – 42.80), América do Norte ( $I^2 = 91\%$ ) com 6.65% (IC 95%, 3.83 – 10.15), Europa ( $I^2 = 98\%$ ) com 4.71% (IC 95%, 2.82 – 7.04) e África ( $I^2 = 91\%$ ) com 1.07% (IC 95%, 0.00 – 6.36). A variação entre as prevalências foi de 0% na Grécia (Ikonomopoulos *et al.*, 2007), Japão (Giangaspero *et al.*, 2013) e Tanzânia (Mpenda, Buza, 2012) a 54.08% no Brasil (Medeiros *et al.*, 2012) (Figura 2).

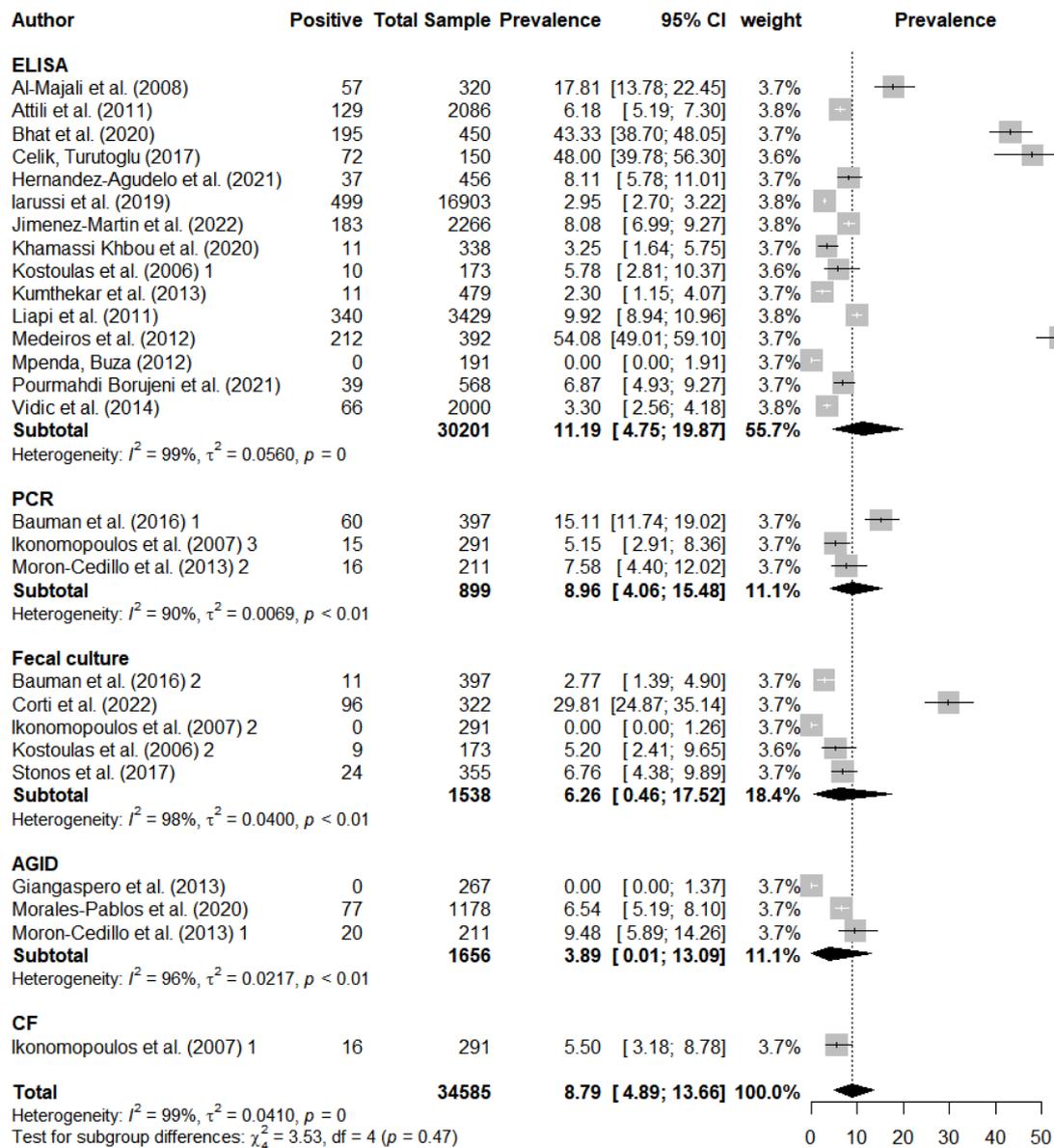
Em relação à meta-análise de subgrupo para o método de diagnóstico também foi observada alta heterogeneidade e variações na prevalência em todos os testes analisados: ELISA ( $I^2 = 99\%$ ) com prevalência de 11.19% (IC 95%, 4.75 – 19.87); PCR ( $I^2 = 90\%$ ) com 8.96% (IC 95%, 4.06 – 15.48); Cultura Fecal ( $I^2 = 98\%$ ) com 6.26% (IC 95%, 0.49 – 22.38) e IDGA ( $I^2 = 96\%$ ) com 3.89% (IC 95%, 0.01 – 13.09) (Figura 3). Para o teste de FC não foi possível avaliar a heterogeneidade por ter sido relatado somente um estudo

com prevalência de 5.50% (IC 95%, 3.18 – 8.78). Contudo, as diferenças entre os testes não foram significativas ( $p = 0.4741$ ) (Figura 3).

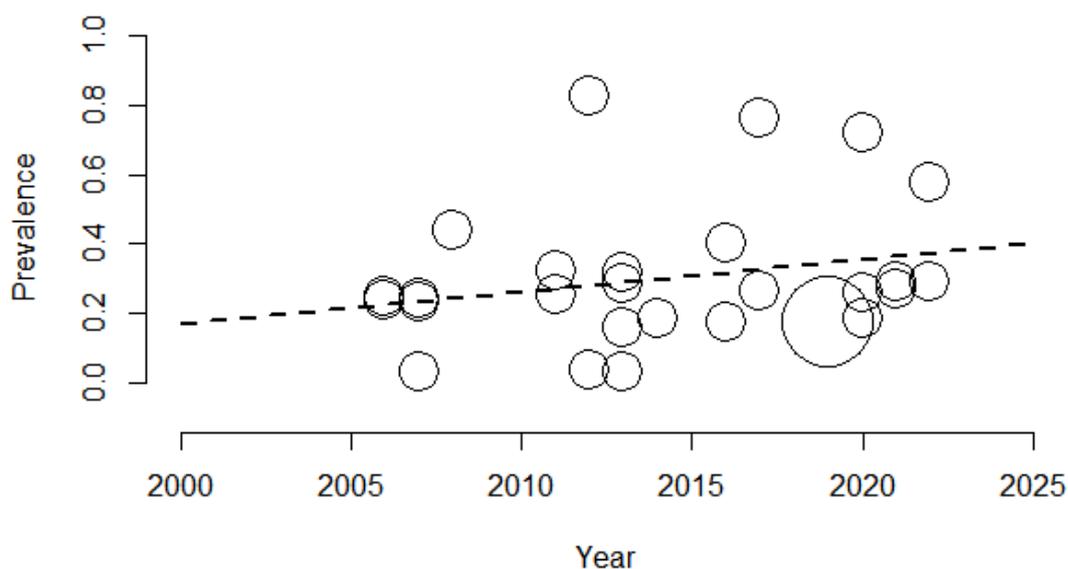
A prevalência entre o período de 2006 a 2022 apresentou leve aumento, porém, na análise de meta-regressão esse aumento não foi estatisticamente significativo ( $p = 0.1968$ ) (Figura 4). Foi observada assimetria aparente no gráfico de funil e a evidência de suspeita de viés de publicação foi corroborada pelo teste estatístico de Egger que foi significativo ( $p = 0.0244$ ) (Figura 5).



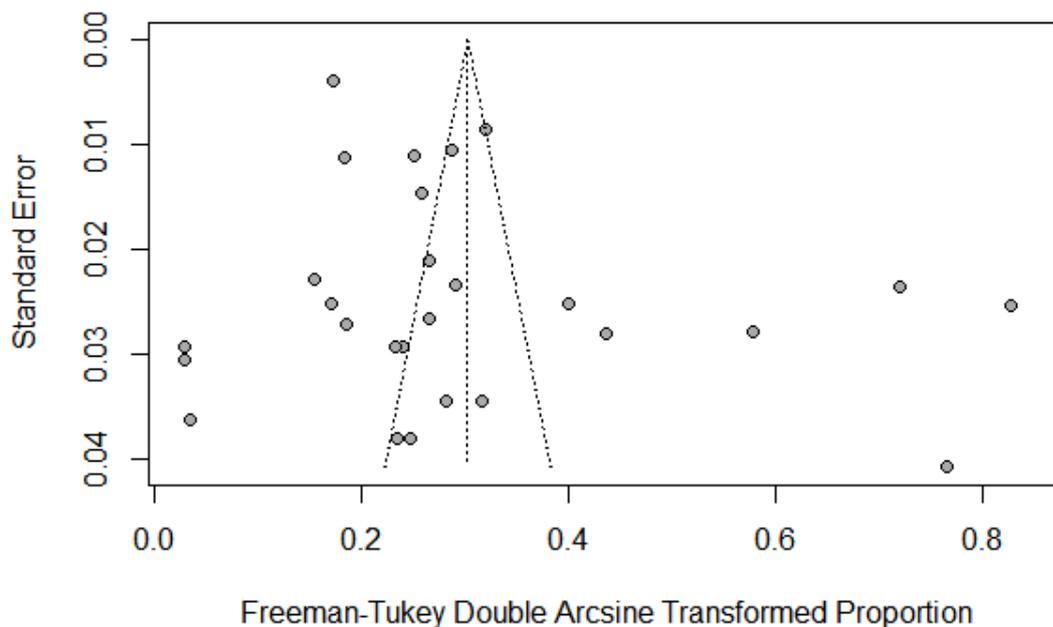
**Figura 2.** Gráfico floresta com a visualização da meta-análise comparando a prevalência de *Map* em ovinos entre os 27 estudos analisados. O ponto preto é a estimativa e a linha horizontal dentro dos quadrados é o IC de 95% para prevalência em cada estudo. As colunas são divididas em região (país e continente), número de animais positivos, número de animais amostrados, a prevalência (%), IC de 95%, o peso do estudo, a prevalência no formato floresta e autores. O diamante negro situado na parte inferior de cada subgrupo indica a prevalência média estimada de *Map* em ovinos por região.



**Figura 3.** Gráfico floresta com a visualização da meta-análise comparando a prevalência de *Map* em ovinos de acordo com o tipo de método de diagnóstico realizado nos 27 estudos analisados. O ponto preto é a estimativa e a linha horizontal dentro dos quadrados é o IC de 95% para prevalência em cada estudo. As colunas são divididas pelo método de diagnóstico (ELISA, PCR, Cultura Fecal, IDGA, FC), número de animais positivos, número de animais amostrados, a prevalência (%), IC de 95%, o peso do estudo, a prevalência no formato floresta e autores. O diamante negro situado na parte inferior de cada subgrupo indica a prevalência média estimada de *Map* em ovinos por método de diagnóstico.



**Figura 4.** Gráfico de meta-regressão do ano de publicação dos estudos que contém dados de prevalência de *Map* em ovinos. Os círculos simbolizam os estudos analisados, o eixo x indica o ano de publicação dos estudos e o eixo y a porcentagem das prevalências ( $n=27$  estudos,  $p = 0.2122$ ).



**Figura 5.** Gráfico funil que avalia a razão de chances de prevalência da infecção por *Map* em ovinos com IC de 95% que foi transformado usando o método Freeman-Tukey double arcsine para estabilizar as diferenças de variância no eixo x em relação ao erro padrão no eixo y da quantidade total de amostras dos 27 estudos analisados. Estudos individuais são representados pelos pequenos círculos cinzas. As linhas externas tracejadas em formato triangular indicam o IC de 95% dos estudos, e a linha vertical central indica o efeito geral.

O grau de assimetria foi  $p < 0,05$  (teste de Egger), indicando que há evidência de viés de publicação significativo.

## Discussão

Observou-se nessa revisão uma prevalência da infecção por *Map* em ovinos de 8.79% (IC 95%, 4.89–13.66). Essa prevalência mundial é menor do que a registrada por Fernández-Silva, Correa-Valencia, Ramírez (2014) de 16% quando analisaram por meio de uma revisão sistemática a prevalência da infecção por *Map* em ovinos na América Latina e no Caribe. Apesar desta enfermidade apresentar distribuição mundial, em muitos países a paratuberculose não é considerada uma doença de notificação obrigatória (WOAH, 2021), mas pode gerar sérias perdas econômicas nos rebanhos infectados (Garcia; Shalloo, 2015).

Ao analisar a prevalência da paratuberculose em ovinos nos diferentes continentes, constatou-se alta heterogeneidade ( $I^2 = 99\%$ ) entre as regiões estudadas e essa diferença foi estatisticamente significativa ( $p = 0.0319$ ). Na América do Sul foi registrada a maior prevalência de infecção, 28.60% (IC 95%, 6.56% – 58.29%) e na África a menor com 1.07% (IC 95%, 0.00% - 6.36%). É importante destacar que a prevalência alta comparada a prevalência geral 8.79% obtida na América do Sul nesse estudo e no estudo de Fernández-Silva, Correa-Valencia, Ramírez (2014) pode estar relacionada à falta de programas de controle da doença nessa região, já que a Europa mesmo apresentando o maior número de estudos ( $n=10$ ) e a América do Norte ( $n=7$ ) apresentaram prevalências baixas com 4.71% (IC 95%, 2.82% - 7.04%) e 6.65% (IC 95%, 3.83 – 10.15), respectivamente. Porém, os continentes europeu e americano apresentam países com instruções normativas bem elaboradas sobre a doença em ruminantes e consequentemente na espécie ovina (Pillars *et al.*, 2009; Stott *et al.*, 2005). Além de muitos possuírem programas de vacinação para paratuberculose (Reddacliff *et al.*, 2006; Windsor, 2015). Todavia, muitas dessas instruções e programas não são realizados em países da América do Sul e da Ásia que obteve a segunda maior prevalência por região de 18.28% (IC 95%, 2.80 – 42.80), o que pode favorecer ao aumento das prevalências registradas (Barkema *et al.*, 2018).

Contudo, outros fatores que podem contribuir para a variabilidade de prevalências entre essas regiões e suas altas heterogeneidades são a quantidade de estudos e de amostras analisadas, aos tipos de métodos de diagnóstico realizados, bem como as

diferentes cepas de *Map* que podem variar de acordo com as diferenças geográficas e climáticas de cada região (Windsor, 2015; Windsor; Whittington, 2020).

Os estudos de prevalência na espécie ovina não são tão expressivos em algumas regiões, como na África, América do Sul e do Norte e isto pode estar relacionado também a maior prioridade dos estudos em paratuberculose envolvendo outros ruminantes, como os bovinos e aos altos custos relacionados ao diagnóstico da infecção em relação ao valor das ovelhas (Gautam *et al.*, 2018; Idris *et al.*, 2021). Além disso, a identificação do agente na espécie ovina parece ser ainda mais desafiadora, tendo em vista que esses animais apresentam maior resistência ao desenvolvimento da doença clínica do que outros ruminantes, podendo muitas vezes os casos na espécie serem subdiagnosticados (Idris *et al.*, 2021; Stewart *et al.*, 2007).

Entre os estudos individuais, houve três estudos com ausência de prevalência (Giangaspero *et al.*, 2013; Ikonopoulou *et al.*, 2007; Mpenda, Buza, 2012) e três com prevalência bastante elevada em 54.08% (Medeiros *et al.*, 2012), 48.00% (Celik, Turutoglu, 2017) e 43.33% (Bhat *et al.*, 2020) para a infecção por *Map* na espécie ovina. Essa disparidade entre as prevalências pode ser atribuída às características do rebanho e da região analisada, ao manejo dos animais, a presença de fatores de risco como convívio com outros animais e ao método de diagnóstico utilizado (Windsor, 2015; Windsor; Whittington, 2020). É importante destacar que a paratuberculose ovina é uma doença de caráter subclínico e, dessa forma, a presença de pelo menos um animal com sinais clínicos no rebanho indica que grande parte dele pode estar infectada subclínicamente. Contudo, quando não há condições favoráveis para a permanência do agente no ambiente e nem a presença de fatores de risco, os casos de infecção de *Map* podem diminuir (Idris *et al.*, 2021; Whittington *et al.*, 2019).

Em relação ao método de diagnóstico, não foi verificada diferença significativa ( $p = 0.4741$ ) entre eles, contudo destaca-se a maior frequência na utilização do teste ELISA com 11.19% (IC 95%, 4.75% - 19.87%). Por ser um teste sorológico rápido e de fácil execução é o mais utilizado para estimar prevalência da infecção por *Map*, além de permitir a identificação de animais em estágio subclínico da infecção (Singh *et al.*, 2009; Hosseiniporgham *et al.*, 2020). Contudo, os diferentes tipos de antígenos utilizados entre os diversos tipos de kits de ELISA existentes podem variar os resultados de prevalência ( $p = 0$ ) (Elsohaby *et al.*, 2021; Idris *et al.*, 2021).

Em relação aos outros tipos de métodos de diagnóstico houve diferenças significativas entre eles ( $p < 0.01$ ). O método molecular utilizado foi a PCR com 8.96%

(IC 95%, 4.06 – 15.48), porém essa dispersão entre os valores de prevalências identificados nesse método pode estar relacionada a variabilidade de cepas de *Map* existentes e que podem infectar ovinos (Mizzi *et al.*, 2021). Além disso, diferenças entre os métodos de extração de DNA de amostras fecais também podem interferir nos resultados (Begg *et al.*, 2017; Plain *et al.*, 2014). A Cultura Fecal apresentou prevalência 6.26% (IC 95%, 0.49 – 22.38), este é um método de diagnóstico que pode ter interferência de muitos fatores como a quantidade de micobactérias, o método de descontaminação nas amostras fecais, o meio de cultura utilizado e o tempo de cultivo bacteriano são alguns exemplos (Nielsen; Toft, 2008; Roller *et al.*, 2020). Já o IDGA apresentou 3.89% (IC 95%, 0.01 – 13.09) de prevalência, é um método sorológico que apresenta boa sensibilidade, que pode variar devido ao tipo de antígeno utilizado no teste (Nielsen; Toft, 2008; Kumthekar *et al.* 2013). Enquanto que a FC é um teste sorológico de baixo custo, porém não muito utilizado para diagnosticar a infecção por *Map*, já que proteínas específicas que ativam o complemento podem estar presentes no soro dos animais em quantidades inadequadas, reduzindo a sensibilidade do teste (Ikonomopoulos *et al.*, 2007).

Sobre a análise de regressão em relação ao ano de publicação dos estudos, o período analisado foi de 2006 a 2022 de acordo com as datas de publicações dos estudos. Como verificado no gráfico de bolhas (Figura 4), o número de estudos publicados aumentou ao longo dos anos, contudo esse aumento não foi significativo ( $p = 0.2122$ ). Isto pode ocorrer por ainda serem limitadas as pesquisas sobre o tema na espécie, principalmente nos locais onde não há programas de controle da doença. Além do mais, os testes de diagnóstico mais antigos apresentavam menores sensibilidades e especificidades em relação aos testes mais atuais (WOAH, 2021).

Através da análise de variação dos estudos realizada pelo gráfico funil e confirmada pelo teste de Egger, foi observado efeito de viés de publicação entre os estudos ( $p = 0.0244$ ). Embora tenha sido relatado viés de publicação, destaca-se que este resultado pode estar relacionado à variabilidade de quantidades amostrais nos estudos selecionados, em que não havia critérios para calcular a amostra, já que a diferença entre os tamanhos da amostra também interfere no efeito de viés de publicação (Sterne *et al.*, 2011; Barendregt *et al.*, 2013) ou que os artigos referentes ao tema não foram publicados ou indexados nas principais plataformas de busca (Egger; Smith, 1998; Sterne *et al.*, 2011). No entanto, mesmo contemplando uma boa parte das principais bases de dados,

não foram realizadas pesquisas adicionais em outras bases de dados regionais de países sem estudos indexados, o que pode ter limitado o presente estudo.

Contudo, houve outros estudos em vários países sobre a prevalência de *Map* em ovinos, no entanto, não foram incluídos nessa revisão por não atenderem aos critérios de inclusão estabelecidos e dessa forma também podem ter contribuído para o efeito de viés de publicação relatado nesse estudo. Todavia, ajustes foram realizados desde os critérios de seleção até a análise dos dados de acordo com testes diagnósticos, análise de heterogeneidade e uso de um modelo de efeito aleatório para contornar a variabilidade dos resultados do estudo.

### **Conclusão**

Com base nos resultados dos estudos analisados, podemos concluir que há disseminação mundial da infecção por *Map* em ovinos. A partir da análise entre continentes, é possível sugerir que a adoção de programas de controle da doença nos locais onde ainda não existem sejam alternativas para diminuir altas prevalências registradas. Além disso, pode favorecer o conhecimento da situação epidemiológica das regiões, principalmente de infecções subclínicas e dessa forma contribuir para que perdas econômicas, muitas vezes subestimadas, relacionadas à paratuberculose ovina sejam reduzidas.

### **Referências**

Al-Majali, Ahmad M.; Jawasreh, Khaleel; Al Nsour, Amer. Epidemiological studies on foot and mouth disease and paratuberculosis in small ruminants in Tafelah and Ma'an, Jordan. **Small Ruminant Research**, v. 78, n. 1-3, p. 197-201, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.05.012>.

Ashworth, S.; Gunn, G. J. Assessment of surveillance and control of Johne's disease in farm animals in GB. Assessment of surveillance and control of Johne's disease in farm animals in GB. Edinburgh: SAC, p. 1-245, 2001.

Attili, Rita, A. et al. Ovine paratuberculosis: a seroprevalence study in dairy flocks reared in the marche region, Italy. **Veterinary medicine international**, v. 2011, 2011.

Barendregt, Jan J. et al. Meta-analysis of prevalence. **J epidemiol community health**, v. 67, n. 11, p. 974-978, 2013. <https://doi.org/10.1136/jech-2013-203104>.

Barkema, Herman W. et al. Global prevalence and economics of infection with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in ruminants. In: Paratuberculosis: organism, disease, control. **Wallingford UK: CABI**, 2010. p. 10-21. <https://doi.org/10.1079/9781845936136.0010>.

Barkema, Herman W. et al. Knowledge gaps that hamper prevention and control of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 65, p. 125-148, 2018. <https://doi.org/10.1111/tbed.12723>.

Bauman, Cathy A. et al. Evaluation of fecal culture and fecal RT-PCR to detect *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* fecal shedding in dairy goats and dairy sheep using latent class Bayesian modeling. **BMC veterinary Research**, v. 12, p. 1-9, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0814-5>.

Begg, D. J. et al. Variation in susceptibility of different breeds of sheep to *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* following experimental inoculation. **Veterinary research**, v. 48, p. 1-11, 2017. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0440-7>.

Bhat, Adil Majid et al. Cross-sectional study on seroprevalence and risk factor analysis of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Kashmir Merino sheep flocks of Central Kashmir valley, India. **Small Ruminant Research**, v. 193, p. 106266, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106266>.

Borenstein, Michael et al. Basics of meta-analysis:  $I^2$  is not an absolute measure of heterogeneity. **Research synthesis methods**, v. 8, n. 1, p. 5-18, 2017. <https://doi.org/10.1002/jrsm.1230>.

Celik, A.; Turutoglu, H. Seroprevalence of paratuberculosis in cattle, sheep and goats in Burdur, southwestern Turkey. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, v. 72, n. 1, p. 30-36, 2017.

Chaubey, Kundan Kumar et al. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*—an important food borne pathogen of high public health significance with special reference to India: an update. **Veterinary Quarterly**, v. 37, n. 1, p. 282-299, 2017. <https://doi.org/10.1080/01652176.2017.1397301>.

Cochran, William G. The combination of estimates from different experiments. **Biometrics**, v. 10, n. 1, p. 101-129, 1954. <https://doi.org/10.2307/3001666>.

Corti, Paulo et al. Dynamic of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in a domestic–wildlife interface: Domestic sheep and guanaco as reservoir community. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 69, n. 4, p. e161-e174, 2022. <https://doi.org/10.1111/tbed.14277>.

Dersimonian, Rebecca; Laird, Nan. Meta-analysis in clinical trials revisited. **Contemporary clinical trials**, v. 45, p. 139-145, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cct.2015.09.002>.

Egger, Matthias; Smith, George Davey. Meta-analysis bias in location and selection of studies. **Bmj**, v. 316, n. 7124, p. 61-66, 1998. <https://doi.org/10.1136/bmj.316.7124.61>.

Elsohaby, I. et al. Serological and Molecular Characterization of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) from Sheep, Goats, Cattle and Camels in the Eastern Province, Saudi Arabia. **Animals: an open access journal from MDPI**, v. 11, n. 2, p. 323, jan. 2021.

Eslami, Majid et al. *Mycobacterium avium paratuberculosis* and *Mycobacterium avium* complex and related subspecies as causative agents of zoonotic and occupational diseases. **Journal of cellular physiology**, v. 234, n. 8, p. 12415-12421, 2019. <https://doi.org/10.1002/jcp.28076>.

Fernández-Silva, Jorge Arturo; Correa-Valencia, Nathalia María; Ramírez, Nicolás Fernando. Systematic review of the prevalence of paratuberculosis in cattle, sheep, and goats in Latin America and the Caribbean. **Tropical animal health and production**, v. 46, p. 1321-1340, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11250-014-0656-8>.

Freeman, Murray F.; Tukey, John W. Transformations related to the angular and the square root. **The Annals of Mathematical Statistics**, p. 607-611, 1950. <https://doi.org/10.1214/aoms/1177729756>.

Garcia, Ana B.; Shalloo, Laurence. Invited review: The economic impact and control of paratuberculosis in cattle. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 8, p. 5019-5039, 2015. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9241>.

Gautam, M. et al. Control of clinical paratuberculosis in New Zealand pastoral livestock. **New Zealand veterinary journal**, v. 66, n. 1, p. 1-8, 2018. <https://doi.org/10.1080/00480169.2017.1379914>.

Giangaspero, Massimo et al. Epidemiological survey for *Toxoplasma gondii*, *Chlamydia psittaci* var. *ovis*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *Coxiella burnetii*, *Brucella* spp., *Leptospirosis* and orf virus among sheep from northern districts of Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 75, n. 5, p. 679-684, 2013. <https://doi.org/10.1292/jvms.12-0384>.

Haddaway, Neal R. et al. PRISMA2020: An R package and Shiny app for producing PRISMA 2020-compliant flow diagrams, with interactivity for optimised digital transparency and Open Synthesis. **Campbell Systematic Reviews**, v. 18, n. 2, p. e1230, 2022. <https://doi.org/10.1002/cl2.1230>.

Hernández-Agudelo, Miguel et al. Prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in sheep flocks from three regions of Antioquia, Colombia. **Austral journal of veterinary sciences**, v. 53, n. 2, p. 83-90, 2021. <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-81322021000200083>.

Higgins, Julian PT et al. Measuring inconsistency in meta-analyses. **Bmj**, v. 327, n. 7414, p. 557-560, 2003. <https://doi.org/10.1136/bmj.327.7414.557>.

Hosseini-porgham, Sepideh et al. Identification of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) in Sheep Milk, a Zoonotic Problem. **Microorganisms**, v. 8, n. 9, p. 1264, 2020. <https://doi.org/10.3390%2Fmicroorganisms8091264>.

Iarussi, F. et al. Epidemiology and risk factors of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in semi-extensive dairy sheep and goat farms of Apulia, southern Italy. **Small Ruminant Research**, v. 177, p. 89-96, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.06.016>.

Idris, Sanaa M. et al. Paratuberculosis: The hidden killer of small ruminants. **Animals**, v. 12, n. 1, p. 12, 2021. <https://dx.doi.org/10.3390/ani12010012>.

Ikonomopoulos, John et al. Comparative evaluation of positive tests to *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in clinically healthy sheep and goats in south-west Greece using molecular techniques, serology, and culture. **The Veterinary Journal**, v. 174, n. 2, p. 337-343, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.09.004>.

Jiménez-Martín, Débora et al. Epidemiology of paratuberculosis in sheep and goats in southern Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 202, p. 105637, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105637>.

Khamassi Khbou, Médiha et al. Seroprevalence of anti-*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* antibodies in female sheep in Tunisia. **Veterinary Medicine and Science**, v. 6, n. 3, p. 393-398, 2020. <https://doi.org/10.1002/vms3.243>.

Kostoulas, P. et al. Bayesian estimation of sensitivity and specificity of serum ELISA and faecal culture for diagnosis of paratuberculosis in Greek dairy sheep and goats. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 76, n. 1-2, p. 56-73, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.04.006>.

Kumthekar, Sachin et al. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* confirmed following serological surveillance of small ruminants in Grenada, West Indies. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 25, n. 4, p. 527-530, 2013. <https://doi.org/10.1177/1040638713490688>.

Liapi, M. et al. Bayesian estimation of the true prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in Cypriot dairy sheep and goat flocks. **Small Ruminant Research**, v. 95, n. 2-3, p. 174-178, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.09.010>.

Mcgowan, Jessie et al. PRESS peer review of electronic search strategies: 2015 guideline statement. **Journal of clinical epidemiology**, v. 75, p. 40-46, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2016.01.021>.

Medeiros, João et al. Paratuberculosis in goats and sheep in the state of Paraíba. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 32, p. 111-115, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012000200003>.

Mizzi, Rachel et al. Comparative genomics of *Mycobacterium avium* subspecies *Paratuberculosis* sheep strains. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, p. 637637, 2021. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.637637>.

Morales-Pablos, Marcela Ivone et al. Risk factors associated with the seroprevalence of paratuberculosis in sheep flocks in the hot-arid region of Sonora, México. **Tropical Animal Health and Production**, v. 52, p. 1357-1363, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-02139-y>.

Morón-Cedillo, F. de J. et al. Prevalence of infection by *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in flocks of sheep of two regions of San Luis Potosi, Mexico. **Revista**

**Científica**, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, v. 23, n. 4, p. 293-299, 2013.

Mpenda, Fulgence; Buza, Joram. Seroprevalence of paratuberculosis in goats and sheep in Arusha, Northern Tanzania. **International Journal of Science and Research**, v. 3, n.9, 2014.

Nielsen, Søren Saxmose; Toft, Nils. A review of prevalences of paratuberculosis in farmed animals in Europe. **Preventive veterinary medicine**, v. 88, n. 1, p. 1-14, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2008.07.003>.

Nielsen, Søren Saxmose; Toft, Nils. Ante mortem diagnosis of paratuberculosis: a review of accuracies of ELISA, interferon- $\gamma$  assay and faecal culture techniques. **Veterinary microbiology**, v. 129, n. 3-4, p. 217-235, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.12.011>.

Pillars, R. B. et al. Economic evaluation of Johne's disease control programs implemented on six Michigan dairy farms. **Preventive veterinary medicine**, v. 90, n. 3-4, p. 223-232, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.04.009>.

Plain, Karren M. et al. High-throughput direct fecal PCR assay for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep and cattle. **Journal of clinical microbiology**, v. 52, n. 3, p. 745-757, 2014. <https://doi.org/10.1128/jcm.03233-13>.

Pourmahdi Borujeni, Mahdi et al. Comparison of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in cattle, sheep and goats in the Khuzestan Province of Iran: Results of a preliminary survey. **Veterinary Medicine and Science**, v. 7, n. 5, p. 1970-1979, 2021. <https://doi.org/10.1002/vms3.559>.

Rasmussen, Philip et al. Economic losses due to Johne's disease (paratuberculosis) in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 104, n. 3, p. 3123-3143, 2021. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19381>.

Reddacliff, L. et al. Efficacy of a killed vaccine for the control of paratuberculosis in Australian sheep flocks. **Veterinary microbiology**, v. 115, n. 1-3, p. 77-90, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.12.021>.

Reiswig, Jennifer. Mendeley. **Journal of the Medical Library Association: JMLA**, v. 98, n. 2, p. 193, 2010.

Roller, Marco et al. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in Zoo animals: A review of susceptibility and disease process. **Frontiers in veterinary science**, v. 7, p. 572724, 2020. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.572724>.

Schwarzer, Guido, Carpenter, James R., Rücker, Gerta. Meta-Analysis With R. **Cham: Springer**, v. 4784, 2015. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-21416-0>.

Schwarzer, Guido., 2007. Package “meta” title general package for meta-analysis. R News 7, 40–45. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/meta/meta.pdf>. Acesso em 22 de jun. 2023.

Singh, A. V et al. Comparative potential of modified indigenous, indigenous and commercial ELISA kits for diagnosis of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in goat and sheep. **Indian journal of experimental biology**, v. 47, n. 5, p. 379–382, maio 2009.

Sterne, Jonathan AC et al. Recommendations for examining and interpreting funnel plot asymmetry in meta-analyses of randomised controlled trials. **Bmj**, v. 343, 2011.. <https://doi.org/10.1136/bmj.d4002>.

Stewart, D. J. et al. A long-term bacteriological and immunological study in Holstein-Friesian cattle experimentally infected with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and necropsy culture results for Holstein-Friesian cattle, Merino sheep and Angora goats. **Veterinary microbiology**, v. 122, n. 1-2, p. 83-96, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.12.030>.

Stonos, Nancy et al. Prevalence of small ruminant lentivirus and *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* co-infection in Ontario dairy sheep and dairy goats. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 81, n. 2, p. 155-159, 2017. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc5370542/>.

Stott, A. W. et al. Financial incentive to control paratuberculosis (Johne’s disease) on dairy farms in the United Kingdom. **Veterinary Record**, v. 156, n. 26, p. 825-831, 2005. <https://doi.org/10.1136/vr.156.26.825>.

Timms, Verlainé J. et al. How accurately can we detect *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection?. **Journal of microbiological methods**, v. 85, n. 1, p. 1-8, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.01.026>.

Vidić, Branka et al. Prevalence of paratuberculosis infection in sheep. **Veterinarski glasnik**, v. 68, n. 3-4, p. 165-174, 2014. <https://doi.org/10.2298/VETGL1404165V>.

Whittington, Richard et al. Control of paratuberculosis: who, why and how. A review of 48 countries. **BMC veterinary research**, v. 15, n. 1, p. 1-29, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1943-4>.

Windsor, Peter A. Paratuberculosis in sheep and goats. **Veterinary microbiology**, v. 181, n. 1-2, p. 161-169, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.07.019>.

Windsor, Peter; WHITTINGTON, Richard. Ovine Paratuberculosis Control in Australia Revisited. **Animals**, v. 10, n. 9, p. 1623, 2020. <https://doi.org/10.3390%2Fani10091623>.

World Organization Animal Health. WOA. Terrestrial Manual: Chapter 3.1.15 - Paratuberculosis (Johnes disease); World Organization for Animal Health, p. 1-15, 2021. Disponível em: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.01.15\\_PARATB.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.15_PARATB.pdf). Acesso em: 22 jun. 2023.

## **CAPÍTULO 3**

### **Artigo 3: Análise da percepção dos médicos veterinários e produtores rurais sobre a paratuberculose e práticas de biossegurança no estado de Pernambuco, Brasil**

Artigo será submetido à Revista Preventive Veterinary Medicine

## **Análise da percepção dos médicos veterinários e produtores rurais sobre paratuberculose e práticas de biosseguridade no estado de Pernambuco, Brasil**

### **Resumo**

Objetivou-se com esta pesquisa realizar uma análise sobre a percepção dos médicos veterinários (MV) e produtores rurais (PR) sobre a paratuberculose e práticas de biosseguridade no estado de Pernambuco, Brasil. Foram selecionados por conveniência 84 médicos veterinários e 54 produtores rurais. Para análise da percepção sobre a paratuberculose e medidas de biosseguridade foi aplicado um questionário com perguntas objetivas sobre a doença e medidas de controle e prevenção. Em relação ao conhecimento sobre a paratuberculose, observou-se que 97.62% ( $n=82/84$ ) de médicos veterinários e 55.56% ( $n=30/54$ ) de produtores rurais conheciam a doença (OR: 0.03, IC 95% 0.03-0.14,  $p < 0.0001$ ). Contudo, sobre o tipo de problema que a PTB ocasiona, MV responderam problemas digestivos (DG) com 85.71% ( $n=72/84$ ), enquanto que entre PR os resultados obtidos na categoria foram 53.70% ( $n=29/54$ ) para problemas respiratórios (RP) e 44.45% ( $n=24/54$ ) para problemas digestivos (DG) ( $p < 0.0001$ ). Sobre as práticas de biosseguridade gerais constatou-se que o termo biosseguridade era conhecido por 98.81% dos médicos veterinários ( $n=83/84$ ) e 55.56% dos produtores rurais ( $n=30/54$ ) ( $p < 0.05$ ). Os dados da pesquisa demonstram que o conhecimento sobre paratuberculose e práticas de biosseguridade entre médicos veterinários e produtores rurais avaliados apresentam diferenças significativas. Por isso, a promoção de educação em saúde para esses profissionais sobre o tema é um instrumento adequado para reduzir custos diretos e indiretos determinados pela enfermidade e promover a boa saúde dos rebanhos do estado de Pernambuco, Brasil.

### **Introdução**

A criação de ruminantes apresenta grandes desafios relacionados a agentes etiológicos que ocasionam diversas doenças reprodutivas, neurológicas, respiratórias ou gastrointestinais. Nesse sentido, algumas doenças, como por exemplo, a paratuberculose, podem proporcionar graves perdas econômicas para os produtores. A Doença de Johne ou Paratuberculose é uma doença bacteriana crônica causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) (Chaubey *et al.*, 2017, WOAHA, 2021) que acomete

ruminantes e pode causar sinais clínicos digestivos como diarreia, perda de peso e diminuição da produção de leite (Brito et al., 2014; Eslami et al., 2018).

As perdas econômicas ocasionadas pela doença são elevadas quando presente nos rebanhos de ruminantes. Em países como Estados Unidos da América (EUA), China, Alemanha, França e Canadá os custos com os prejuízos causados por animais acometidos com paratuberculose podem variar de US\$ 30 milhões a US\$ 200 milhões (Rasmussen et al., 2021). Enquanto o custo por bovino infectado na Austrália pode alcançar US\$ 1700 por animal ao ano (Shephard; Williams; Beckett, 2016).

Com um risco zoonótico e gerador de grandes perdas econômicas na propriedade, o agente causador da paratuberculose pode ser prevenido através da ação de medidas de biossegurança. A biossegurança é definida como um conjunto de ações que promovem a prevenção e proteção contra agravos e agentes infecciosos intra e inter-rebanho que colocam em risco a saúde dos animais (Bohner et al., 2011; Mee et al., 2012).

Desta forma, é importante implementar nas propriedades rurais o uso de medidas de biossegurança que são formas para minimizar esses danos e evitar a infecção dos animais e contaminação do meio ambiente com agentes patogênicos como *Map*. Essas medidas visam um manejo e higiene de qualidade, garantindo saúde para os animais (Benjamin et al., 2010; Jordan et al., 2020).

No Brasil há alguns estudos sobre a avaliação de práticas de biossegurança em rebanhos suínos (Silva et al., 2019a; Silva et al., 2019b), entretanto, estudos relacionados a percepção dos médicos veterinários e produtores rurais com medidas de biossegurança diretamente relacionados a paratuberculose ainda são escassos. Neste contexto, o conhecimento sobre biossegurança destinado a produtores rurais e médicos veterinários é essencial para prevenir, controlar ou mesmo erradicar doenças, principalmente aquelas de caráter infeccioso, e dessa forma aumentar a produtividade do rebanho.

Tendo em vista a importância de ruminantes e as perdas econômicas relacionadas à paratuberculose nessas espécies, bem como os impactos ocasionados pela limitação ou ineficientes práticas de manejo e controle dessa enfermidade, objetivou-se com esta pesquisa realizar um estudo para analisar a percepção de médicos veterinários e produtores rurais do estado de Pernambuco, Brasil sobre paratuberculose e práticas de biossegurança.

## **Materiais e Métodos**

## **Local do estudo**

A pesquisa foi aprovada no Comitê de Ética (CEP) da Universidade de Pernambuco (UPE) pela Resolução 466/2012 (Brasil, 2012) - CNS/CONEP (Licença nº 5.452.416/2022).

A região escolhida para a realização desta pesquisa foi o estado de Pernambuco que se caracteriza por apresentar uma economia diversificada em termos de produção agropecuária. Este estado está localizado ao centro-leste da região Nordeste do Brasil, fazendo divisa com os estados da Paraíba, Ceará, Alagoas, Bahia e Piauí, cuja área territorial é de 98.067,881 km<sup>2</sup>, dividido em: São Francisco Pernambucano, Sertão Pernambucano, Agreste Pernambucano, Mata Pernambucana e Metropolitana do Recife – Brasil (Brasil, 2022).

## **Amostragem e questionário investigativo**

Para compor a pesquisa foram selecionados por amostragem não probabilística por conveniência, produtores rurais e médicos veterinários do estado de Pernambuco. Como critérios de inclusão os produtores rurais selecionados deveriam ser criadores de ruminantes e os médicos veterinários que trabalham com animais de produção e que atuam em propriedades localizadas no estado de Pernambuco.

O convite para participar da pesquisa foi realizado através de contato por telefone, e-mail e/ou pessoalmente, dessa forma, os participantes foram voluntários que se disponibilizaram em responder ao questionário investigativo voltado às práticas de biossegurança e paratuberculose, obtendo o retorno de 84 médicos veterinários (MV) e 54 produtores rurais (PR) da região, totalizando 138 participantes nessa pesquisa.

O questionário investigativo foi aplicado aos voluntários por meio de formulário eletrônico disponível na plataforma do Google Forms® ou por meio de entrevista para os que não tinham acesso ao formulário eletrônico. Como critérios de exclusão não foram selecionados participantes menores de 18 anos, nem aqueles que se recusaram ou que se não obteve respostas completas para participação na pesquisa ou que não trabalhavam no estado de Pernambuco.

O questionário dos médicos veterinários era composto por 44 perguntas, enquanto o questionário para os produtores consistia de 53 perguntas. Em ambos os questionários as perguntas foram agrupadas nos seguintes tópicos: identificação do participante; conhecimento sobre biossegurança; conhecimento sobre paratuberculose seguindo os

modelos adaptados de questionários descritos por Sayers et al. (2014) e Benjamin et al. (2010).

As questões de ambos os inquéritos incluíam respostas dicotômicas (sim/não) e de múltipla escolha. Em quatro questões do formulário para médicos veterinários sobre o tópico “conhecimento sobre biossegurança” havia respostas com a escala tipo *Likert* de 5 categorias: concordo totalmente; concordo; nem concordo, nem discordo; discordo e discordo totalmente. Todavia, as mesmas perguntas foram realizadas para os produtores rurais, porém as variáveis foram categorizadas em dicotômicas. Além disso, “não sei informar” foram incluídas no inquérito aos produtores rurais.

### **Análise dos dados**

A tabulação dos dados e geração de gráficos foi realizada no programa Microsoft Excel® (versão MS Office, 2007). Posteriormente, uma análise descritiva com dispersão das frequências absoluta e relativa dos resultados obtidos na pesquisa foi realizada. As análises qui-quadrado de Pearson com correção de Yates e o Teste Exato de Fisher foram utilizadas para variáveis dicotômicas ou que foram dicotomizadas para melhor análise dos resultados. Os testes foram realizados utilizando o programa R versão 4.3.0 com RStudio (R Core Team, 2023) através do pacote “gmodels” e do comando “crosstable” (Warnes, 2018).

O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para variáveis não paramétricas e não-dicotômicas e foi ajustado pelo teste de Dunn pelo modelo de Bon Ferroni (Corder, Foreman, 2011) e foi utilizado o pacote “rstatix” e dos comandos “kruskal.test” e “dunn\_test” do programa R versão 4.3.0 com RStudio (R Core Team, 2023). A escala *Likert* foram completadas através do pacote “likert” do comando “lik” também com o programa R (Bryer; Speerschneider, 2016).

As variáveis dependentes (questões da pesquisa) foram categorizadas em "conhecimento sobre paratuberculose" (Tabela 2) ou "conhecimento sobre biossegurança" (Tabela 4). As respostas às questões que apareceram nos questionários de médicos veterinários (MV) e produtores rurais (PR) foram comparadas por meio de *Odds Ratio* (OR) após a dicotomização das respostas. Os valores de  $p$  associados foram estimados entre as respostas, sendo considerados significativos valores de  $p < 0.05$ .

### **Resultados**

Em relação ao local de trabalho dos médicos veterinários e produtores rurais avaliados não foi possível realizar uma análise sobre as cidades e regiões de Pernambuco onde atuavam, já que muitos atuavam em mais de uma cidade ou não especificaram a cidade ou região do estado que trabalhavam, contudo houve representantes das regiões do estado: São Francisco Pernambucano (MV=6, PR=12), Sertão Pernambucano (MV=7, PR=4), Agreste Pernambucano (MV=45, PR=27), Mata Pernambucana (MV=8, PR=2) e Metropolitana do Recife (MV=6, PR=6). Não especificaram a região do estado que trabalhavam (MV = 20, PR=8), especificaram mais de uma região de trabalho (MV = 6, PR=4).

#### *Identificação dos participantes*

Para identificação dos participantes, tem-se o gênero, o tempo de serviço e o tipo de criação ou espécie de trabalho analisadas. A variável gênero apresentou 27.54% ( $n=38/138$ ) de participantes que se consideravam do sexo feminino, dos quais 36.90% ( $n=31/84$ ) do grupo de médicas veterinárias e 12.96% ( $n=7/54$ ) eram produtoras rurais. Enquanto, aqueles que se consideram do gênero masculino foi 72.46% ( $n=100/138$ ) participantes, dentre eles há 64.29% (IC 95%,  $n=54/84$ ) médicos veterinários e 87.04% (IC 95%,  $n=47/54$ ) produtores rurais (OR: 0.26, IC 95%: 0.09 - 0.67,  $p = 0.003$ ) (Tabela 1).

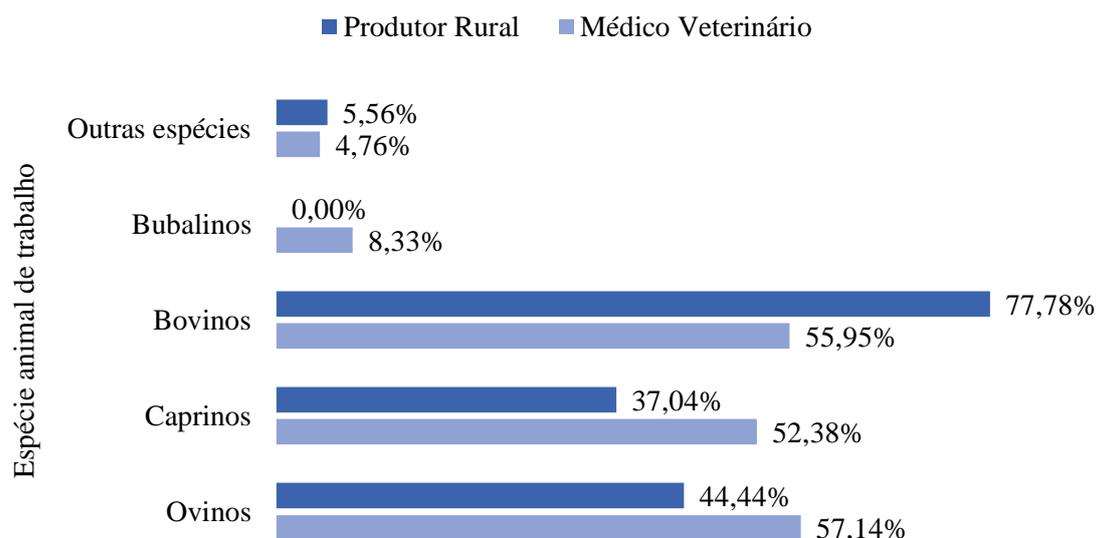
Para a variável tempo de atividade laboral os dados foram observados em cinco períodos com os seguintes resultados: 40.48% (MV=34/84) e 16.67% (PR=9/54) tinham entre 0 a 5 anos de atividade; 36.90% (MV=31/84) e 27.78% (PR=15/54) entre 6 a 10 anos; 15.48% (MV=13/84) 31.48% (PR=17/54) no intervalo de 11 a 20 anos; 3.57% (MV=3/84) e 14.81% (PR=8/54) entre 21 a 30 anos e > 31 anos com 3.57% (MV=3/84) e 9.26% (PR=5/54) (Tabela 1).

Para a espécie que os MV e PR trabalham foi relatado: bovinos 55.95% (MV=47/84) e 77.78% (PR=42/54), bubalinos 8.33% (MV=7/84) e 0.00% (PR=0/54), ovinos 57.14% (MV=48/84) e 44.44% (PR=24/54), caprinos 52.38% (MV=44/84) e 37.04% (PR=20/54) e outros animais (como suínos e equinos) 4.76% (MV=4/84) e 5.55% (PR=3/54) (Figura 1).

**Tabela 1:** Relação quanto ao gênero e tempo de atividade laboral de 84 médicos veterinários e 54 produtores rurais do estado de Pernambuco sobre o questionário investigativo sobre paratuberculose e biosseguridade.

Variável	MV (%)	PR (%)	OR	95%(CI)	Chi <sup>2</sup> *	
Gênero	Mulher	36.90 (31/84)	12.96 (7/54)	0.26	0.09-0.67	$p = 0.003$
	Homem	64.29 (54/84)	87.04 (47/54)			
Tempo de trabalho	0 a 5 anos	40.48 (34/84)	16.67 (9/54)	-	-	$p < 0.001^{**}$
	6 a 10 anos	36.90 (31/84)	27.78 (15/54)			
	11 a 20 anos	15.48 (13/84)	31.48 (17/54)			
	21 a 30 anos	3.57 (3/84)	14.81 (8/81)			
	> 31 anos	3.57 (3/84)	9.26 (5/54)			

IC = Intervalo de confiança; OR=*Odds Ratio*; \*Chi<sup>2</sup> = Teste Qui-quadrado de Pearson com correção de Yates/Teste Exato de Fisher de Fisher representado pelo valor de  $p$  (valores significativos  $p < 0.05$ ); \*\*Qui-quadrado de Kruskal-Wallis; MV = Médicos Veterinários; PR = Produtor Rural



**Figura 1:** Distribuição das frequências relativas quanto à espécie animal de trabalho de 84 médicos veterinários e 54 produtores rurais do estado de Pernambuco, Brasil sobre paratuberculose e biosseguridade.

### *Conhecimento sobre paratuberculose*

Dentre as perguntas relativas ao conhecimento sobre paratuberculose (PTB), foram analisadas de forma geral aos 138 participantes, divididos entre médicos veterinários (MV=84) e produtores rurais (PR=54) (Tabela 2) e por grupo que apresentaram casos positivos de paratuberculose no rebanho ( $n=28$ ) (Tabela 3).

Na análise da variável “Sabe o que é PTB?” foram observados 97.62% ( $n=82/84$ ) de médicos veterinários e 55.56% ( $n=30/54$ ) de produtores rurais que conheciam a doença (OR: 0.03, IC 95% 0.03-0.14,  $p < 0.0001$ ). Enquanto 97.62% (MV=82/84) e 92.59% (PR=50/54) responderam que o agente etiológico responsável por causar paratuberculose era uma bactéria ( $p = 0.1629$ ), as categorias vírus e fungos possuíram 1.19% (MV=1/84) e 5.56% (PR=3/54) e 1.19% (MV=1/84) e 1.85% (PR=1/54), respectivamente, enquanto planta e parasito não tiveram respostas positivas nos questionários.

Em relação ao tipo de problema que a PTB causa, médicos veterinários responderam em 85.71% ( $n=72/84$ ) problemas digestivos (DG), 13.10% ( $n=11/84$ ) para problemas respiratórios (RP), 1.19% ( $n=1/84$ ) para problemas dermatológicos (DM) e nenhum escolheu a categoria neurológico (NR) 0.00% ( $n=0/84$ ). No entanto, para produtores rurais os resultados obtidos em cada categoria foram 53.70% ( $n=29/54$ ) para RP, 44.45% ( $n=24/54$ ) para DG, 1.85% ( $n=1/54$ ) para DM e 0.00% ( $n=0/54$ ) para NR. Entre os grupos essa questão apresentou diferença significativa ( $p < 0.0001$ ) (Tabela 2).

Ao serem perguntados sobre se acreditavam que a PTB era doença de notificação obrigatória 58.33% (MV=49/84) e 25.93% (PR=14/54) responderam “sim”, enquanto 41.67% (MV=35/84) e 74.07% (PR=40/54) responderam “não”. Houve diferença significativa entre os grupos analisados para essa questão (OR: 0.25, IC 95% 0.11-0.56,  $p = 0.0002$ ). Para a variável “vacina no Brasil” também houve diferença significativa entre os grupos (OR: 12.47, IC 95% 4.65-38.05,  $p < 0.0001$ ), dessa forma, foi observado 8.33% (MV=7/84) e 53.70% (PR=29/54) de respostas positivas sobre o Brasil ter vacina para PTB (Tabela 2).

Sobre a variável transmissão do agente ( $p < 0.05$ ), 76.19% (MV=64/84) e 35.19% (PR=19/54) responderam que o contato com as fezes contaminadas era a principal forma de transmissão de *Map*. O contato com secreções e excreções de material biológico entre os animais obteve entre as alternativas, 19.05% (MV=16/84) e 53.70% (PR=29/54). Entre médicos veterinários ainda houve respostas para vetor, como mosquitos com 2.38%

( $n=2/84$ ), coito e contato com agulhas contaminadas com 1.19% ( $n=1/84$ ) cada. Enquanto que para produtores rurais 9.26% ( $n=5/54$ ) responderam vetores, 1.85 ( $n=1/54$ ) responderam contato com agulhas contaminadas e nenhum afirmou coito como forma de transmissão do agente (Tabela 2).

Entre a principal forma de prevenção da doença, MV destacaram evitar o contato com fezes de animais infectados como a principal medida preventiva 76.19% ( $n=64/84$ ), seguido de evitar contato com secreções 17.86% ( $n=15/84$ ), evitar o consumo de alimentos contaminados 3.57% ( $n=3/84$ ) e de vetores 2.38% ( $n=2/84$ ). Evitar o contato com secreções foi a principal medida de prevenção observada entre os PR 48.15% ( $n=26/54$ ), na sequência evitar o contato com fezes contaminadas 38.89% ( $n=21/54$ ), evitar o consumo de alimentos contaminados 11.11% ( $n=6/54$ ) e o contato com vetores 1.85% ( $n=1/54$ ). Nessa categoria a variável apresentou  $p < 0.05$  (Tabela 2).

Ao serem perguntados sobre se já tiveram casos de paratuberculose 26.19% (MV=22/84) e 11.11% (PR=6/54) afirmaram que “sim” ( $p = 0.0013$ ) (Tabela 1). Entre esse grupo foi realizada uma análise específica sobre os sinais clínicos apresentados pelos animais, as práticas preventivas que foram realizadas e o destino dos animais com a enfermidade (Tabela 3). Dentre os sinais clínicos, foi observada diarreia 100.00% ( $n=28/28$ ), emagrecimento 89.29% ( $n=25/28$ ), perda de produção 82.14% ( $n=23/28$ ) e animais sem sinais clínicos 3.57% ( $n=1/28$ ). Para a forma de prevenção de paratuberculose realizada, os resultados foram 53.57% ( $n=15/28$ ) para a realização de rotação de pastagem, 64.29% ( $n=18/28$ ) para limpeza e descarte de fezes em local apropriado, 53.57% ( $n=15/28$ ) para fornecimento de colostro, 85.71% ( $n=24/28$ ) evitar o consumo de leite e alimentos contaminados com fezes e evitar aglomeração e superlotação do rebanho 57.14% ( $n=16/28$ ). Sobre a categoria de destino dos animais acometidos com PTB 92.86% ( $n=26/28$ ) responderam a realização de sacrifício, 10.71% ( $n=3/28$ ) a realização de isolamento e 14.29% ( $n=4/28$ ) a realização de tratamento. Entre MV e PR houve diferença significativa somente na variável “sacrificado” para a categoria destino dos animais ( $p = 0.039$ ) (Tabela 3).

Sobre o diagnóstico da doença aos produtores rurais foram perguntados se havia método para diagnosticar e 100.00% (PR=54/54) confirmaram a afirmação, todavia, para os médicos veterinários essa pergunta foi mais específica, ao serem perguntados sobre qual o tipo de método de diagnóstico confirmatório para paratuberculose 12.94% (MV=11/84) responderam teste molecular, microbiológico com 22.62% (MV=19/84),

sorológico com 17.86% (MV=15/84) e 42.43% (MV=39/84) responderam todas as alternativas.

Especificamente para os médicos veterinários que já trabalharam com casos de paratuberculose ( $n=22/28$ ), foi perguntado qual o método de diagnóstico que foi utilizado para identificar esses casos, as frequências obtidas foram: Clínico-epidemiológico 77.27% ( $n=17/22$ ); Clínico-Epidemiológico + sorológico 9.09% ( $n=2/22$ ); Clínico-epidemiológico + sorológico + molecular 9.09% ( $n=2/22$ ), Clínico-epidemiológico + sorológico + molecular + microbiológico 4.54% ( $n=1/22$ ).

**Tabela 2:** Distribuição das perguntas relacionadas a “conhecimento sobre paratuberculose” de médicos veterinários ( $n=84$ ) e produtores rurais ( $n=54$ ) do estado de Pernambuco, Brasil.

Variável		MV (%)	PR (%)	OR	95%(IC)	Chi <sup>2</sup> *
Sabe o que é PTB?	Sim	97.62 (82/84)	55.56 (30/54)	0.03	0.003-0.14	$p < 0.0001$
	Não	2.38 (2/84)	44.44 (24/54)			
Agente etiológico	Bactéria	97.62 (82/84)	92.59 (50/54)	-	-	$p = 0.1629^{**}$
	Vírus	1.19 (1/84)	5.56 (3/54)			
	Fungo	1.19 (1/84)	1.85 (1/54)			
	Planta	0.00 (0/84)	0.00 (0/54)			
	Parasito	0.00 (0/84)	0.00 (0/54)			
PTB causa o quê?	DG	85.71 (72/84)	44.45 (24/54)	-	-	$p < 0.0001^{**}$
	RP	13.10 (11/84)	53.70 (29/54)			
	DM	1.19 (1/84)	1.85 (1/54)			
	NR	0.00 (0/84)	0.00 (0/54)			
Doença de notificação obrigatória	Sim	58.33 (49/84)	25.93 (14/54)	0.25	0.11-0.56	$p = 0.0002$
	Não	41.67 (35/84)	74.07 (40/54)			
Transmissão do agente	Vetor	2.38 (2/84)	9.26 (5/54)	-	-	$p = 0.002^{**}$
	Fezes	76.19 (64/84)	35.19 (19/54)			
	Secreção	19.05 (16/84)	53.70 (29/54)			
	Coito	1.19 (1/84)	0.00 (0/54)			
	Agulha	1.19 (1/84)	1.85 (1/54)			
Prevenção da doença	Fezes	76.19 (64/84)	38.89 (21/54)	-	-	$p < 0.0001^{**}$
	Alimentos	3.57 (3/84)	11.11 (6/54)			
	Secreções	17.86 (15/84)	48.15 (26/54)			
	Vetor	2.38 (2/84)	1.85 (1/54)			
Vacina no Brasil	Sim	8.33 (7/84)	53.70 (29/54)	-	-	$p < 0.0001$
	Não	91.67 (77/84)	46.30 (25/54)			
Já teve casos de PTB?	Sim	26.19 (22/84)	11.11 (6/54)	-	-	$p = 0.0013^{**}$
	Não	73.81 (62/84)	88.89 (48/54)			
	Não sei informar	-	12.6 (7/54)			

IC = Intervalo de confiança; OR=*Odds Ratio*; \*Chi<sup>2</sup> = Teste Qui-quadrado de Pearson com correção de Yates/Teste Exato de Fisher representado pelo valor de  $p$  (valores significativos  $p < 0.05$ ); \*\*Qui-quadrado de Kruskal-Wallis; Variáveis: DG (Digestivo); RP (Respiratório); DM (Dermatológico); NR (Neurológico)

**Tabela 3:** Distribuição dos dados sobre as “características de paratuberculose” de médicos veterinários e produtores rurais do estado de Pernambuco que tiveram casos positivos da doença ( $n=28$ ).

<b>Categoria</b>	<b>Variável</b>		<b>(%)</b>	<b>(%)</b>	<b>OR</b>	<b>95%(IC)</b>	<b>Chi<sup>2</sup></b>
Sinais Clínicos	Diarreia e/ou fezes amolecidas	Sim	100.00 (28/28)	78.57 MV 21.43 PR	-	-	$p = 0.5299$
		Não	0.00 (0/28)	-			
	Emagrecimento progressivo	Sim	89.29 (25/28)	90.91 MV 3.33 PR	1.94	0.028-45.01	$p = 0.28$
		Não	10.71 (3/28)	9.09 MV 0.64 PR			
	Perda de produção	Sim	82.14 (23/28)	86.36 MV 66.67 PR	3.01	0.19-37.39	$p = 1$
		Não	17.86 (5/28)	13.64 MV 33.33 PR			
	Sem sinais clínicos	Sim	3.57 (1/28)	4.55 MV 0.00 PR	-	-	$p = 1$
		Não	96.43 (27/28)	95.45 MV 5.79 PR			
	Rotação de pastagem	Sim	53.57 (15/28)	54.55 MV 50.00 PR	1.19	0.13-11.02	$p = 0.6345$
		Não	46.43 (13/28)	45.45 MV 50.00 PR			
Limpeza e descarte de fezes	Sim	64.29 (18/28)	68.18 MV 50.00 PR	2.08	0.22-191	$p = 1$	
	Não	35.71 (10/28)	31.82 MV 50.00 PR				
Medidas de prevenção	Fornecimento de colostro	Sim	53.57 (15/28)	54.55 MV 50.00 PR	1.19	0.13-11.02	$p = 0.5487$
		Não	46.43 (13/28)	45.45 MV 50.00 PR			
	Evitar o contato com água e alimentos contaminados com fezes	Sim	85.71 (24/28)	81.82 MV 100.00 PR	0	0 - 5.91	$p = 1$
		Não	14.29 (4/28)	18.18 MV 0.00 PR			
Evitar aglomeração dos animais	Sim	57.14 (16/28)	59.09 MV 50.00 PR	1.42	0.15-13.25	$p = 0.039$	
	Não	42.86 (12/28)	40.91 MV 50.00 PR				
Destino dos animais	Sacrifício	Sim	92.86 (26/28)	100.00 MV 66.67 PR	-	0 - 0.75	$p = 1$
		Não	7.14 (2/28)	0.00 MV 33.33 PR			
	Isolado	Sim	10.71 (3/28)	13.64 MV 0.00 PR	-	0 - 0.11	$p = 0.1914$
		Não	89.29 (25/28)	86.36 MV 100.00 PR			
	Tratamento	Sim	14.29 (4/28)	9.09 MV 33.33 PR	1.22	0.02-3.78	$p = 0.1914$
Não	85.71 (24/28)	90.91 MV 66.67 PR					

IC = Intervalo de confiança; OR=*Odds Ratio*;  $\chi^2$  = Teste Qui-quadrado de Pearson com correção de Yates/Teste Exato de Fisher representado pelo valor de  $p$  (valores significativos  $p < 0.05$ ); MV=Médicos Veterinários; PR=Produtores Rurais

### *Conhecimento sobre biosseguridade*

Ao serem questionados sobre biosseguridade 98.81% (MV=83/84) e 55.56% (PR=30/54) responderam saber do significado do termo ( $p < 0.05$ ) (Tabela 4). Contudo, na análise realizada especificamente sobre o que o termo significava 38.10% (MV=32/84) e 18.52% (PR=10/54) responderam que biosseguridade estava relacionado ao conjunto de medidas para evitar a ocorrência de acidentes de trabalho, 34.52% (MV=29/84) e 35.19% (PR=19/54) responderam ao uso de equipamentos de segurança individual (EPI) como máscaras e luvas, 38.10% (MV=32/84) e 62.96% (PR=34/54) relataram a vacinação do rebanho contra doenças infecciosas e 79.76% (MV=52/84) e 68.52% (PR=37/54) identificaram a prevenção e controle de transmissão de doenças no rebanho como o termo mais próximo a biosseguridade. Houve diferença estatisticamente significativa entre médicos veterinários e produtores rurais para todas as variáveis ( $p < 0.05$ ), exceto “EPI” ( $p = 1$ ) e “prevenção de doenças” ( $p = 0.1586$ ) (Tabela 4).

Para as questões sobre as práticas de biosseguridade que eram realizadas pelos participantes da pesquisa foram observados: 75.00% (MV=63/84) e 64.81% (PR=35/54) realizavam a limpeza das instalações onde os animais ficam alojados; o uso de EPI em 78.57% (MV=66/84) e 64.81% (PR=35/54); a limpeza e desinfecção das mãos e dos EPI utilizados em 75.00% (MV=63/84) e 66.67% (PR=36/54); o descarte de seringas e materiais perfurocortantes em 86.90% (MV=73/84) e 35.19% (PR=19/54); o descarte de restos placentários, abortos e carcaças em local apropriado em 51.19% (MV=43/84) e 20.37% (PR=11/54); vacinação 90.48% (MV=76/84) e 100.00% (PR=54/54); a realização de quarentena 48.81% (MV=41/84) e 50.00% (PR=27/54); separação dos animais doentes dos sadios 76.19% (MV=64/84) e 25.93% (PR=14/54); separação por idade dos animais 38.10% (MV=32/84) e 12.96% (PR=7/54); realização de testes de diagnóstico para doenças na região 89.29% (MV=75/84) e 35.19% (PR=19/54); realizar controle dos animais silvestres dentro do rebanho 64.29% (MV=54/84) e 38.89% (PR=21/54) e do controle de pragas e vetores 94.05% (MV=79/84) e 46.30% (PR=25/54) (Tabela 5). Diferenças significativas entre MV e PR foram observadas em todos os itens referentes a “práticas de biosseguridade” ( $p < 0.05$ ), exceto nas variáveis limpeza das instalações, limpeza das mãos e quarentena (Tabela 5).

Para os quatro questionamentos em escala *Likert* realizados aos médicos veterinários 69.10% (MV=58/84) concordaram e concordaram totalmente com a afirmação “Estou satisfeito com as medidas de biosseguridade realizadas”, enquanto 92.80% (MV=78/84) concordam e concordam totalmente que as medidas de biosseguridade realizadas devem ser melhoradas. Para a afirmação em que o uso de EPI favorece a prevenção de doenças 94.10% (MV=79/84) concordaram ou concordaram totalmente e quando perguntados se o período de quarentena correspondia ao período em que animais recém-nascidos ficam junto de animais sadios 100% (MV=84/84) discordaram totalmente ou discordaram dessa afirmativa (Figura 2).

As mesmas perguntas foram realizadas aos produtores rurais com as respostas em formato sim/não, em que se obteve 57.41% ( $n=31/54$ ) satisfeitos com as medidas de biosseguridade realizadas, 94.44% ( $n=51/54$ ) afirmaram que poderiam ser melhoradas, 96.30% ( $n=52/54$ ) confirmaram que a quarentena é um período de separação de animais recém-adquiridos ao rebanho e 100.00% ( $n=54/54$ ) acredita que o uso de EPI ajuda a prevenir doenças infecciosas.

Os produtores rurais foram questionados quanto ao recebimento de orientações sobre a realização de práticas de biosseguridade nas propriedades e foi observado que 59.26% ( $n=32/54$ ) já tinham recebido algumas informações de médicos veterinários, 27.78% ( $n=15/54$ ) receberam orientações advindas de cursos e palestras em associações, 1.85% ( $n=1/54$ ) e 1.85% ( $n=1/54$ ) foram orientados pelo proprietário da fazenda ou por empregados antigos. Todavia, 33.33% ( $n=18/54$ ) nunca receberam qualquer tipo de orientação sobre como realizar essas medidas.

**Tabela 4:** Distribuição dos dados referentes a opiniões sobre biosseguridade de médicos veterinários e produtores rurais do estado de Pernambuco, Brasil.

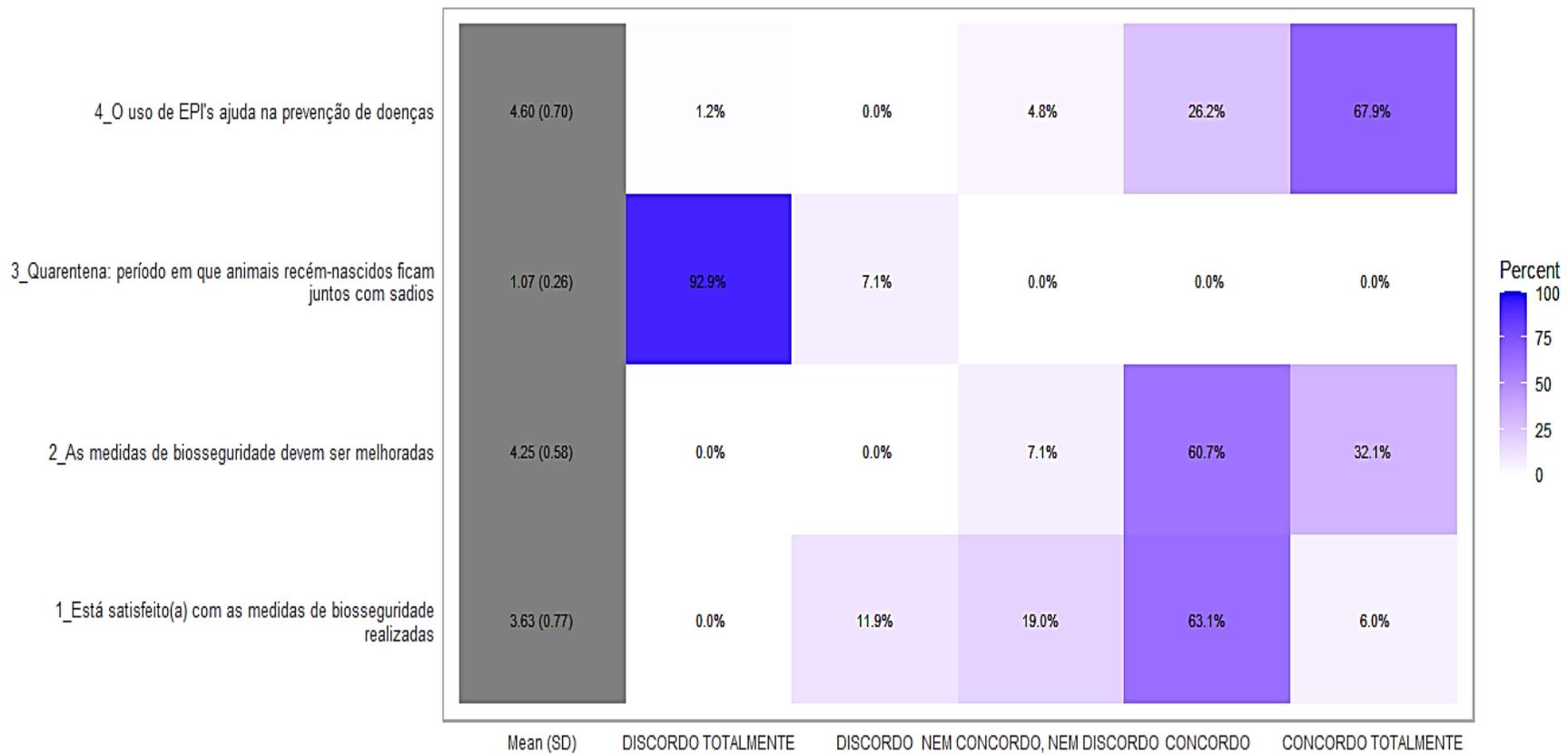
<b>Questão</b>		<b>MV(%)</b>	<b>PR(%)</b>	<b>OR</b>	<b>95%(CI)</b>	<b>Chi<sup>2</sup></b>
Sabe o que é biosseguridade?	Sim	98.81 (83/84)	55.56 (30/54)	64.44	9.67 - 2719.46	$p < 0.0001$
	Não	1.19 (1/84)	44.44 (24/54)			
Acidente de trabalho	Sim	38.10 (32/84)	18.52 (10/54)	2.68	1.13 - 6.85	$p = 0.0222$
	Não	61.90 (52/84)	81.48 (44/54)			
Uso de EPI's	Sim	34.52 (29/84)	35.19 (19/54)	0.97	0.45 - 2.13	$p = 1$
	Não	65.48 (55/84)	64.81 (35/54)			
Vacinação dos animais	Sim	38.10 (32/84)	62.96 (34/54)	0.36	0.17 - 0.78	$p = 0.0052$
	Não	61.90 (52/84)	37.04 (20/54)			
Prevenção de doenças	Sim	79.76 (67/84)	68.52 (37/54)	1.80	0.76 - 4.26	$p = 0.1586$
	Não	20.24 (17/84)	31.48 (17/54)			

IC = Intervalo de confiança; OR=*Odds Ratio*; Chi<sup>2</sup> = Teste Qui-quadrado de Pearson com correção de Yates/ Teste Exato de Fisher representado pelo valor de  $p$  (valores significativos  $p < 0.05$ ); MV=Médicos Veterinários; PR=Produtores Rurais

**Tabela 5:** Frequências relativas e absolutas das perguntas relacionadas aos tipos de medidas de biosseguridade realizadas por médicos veterinários ( $n=84$ ) e produtores rurais ( $n=54$ ) do estado de Pernambuco, Brasil.

Variável		MV (%)	PR (%)	OR	95%(CI)	Chi <sup>2</sup>
PRÁTICAS DE BIOSSEGURIDADE	Limpeza das instalações	Sim 75.00 (63/84) Não 25.00 (21/84)	64.81 (35/54) 35.19 (19/54)	1.62	0.72 - 3.66	$p = 0.2491$
	Uso de EPI	Sim 78.57 (66/84) Não 21.43 (18/84)	64.81 (35/54) 35.19 (19/54)	1.98	0.86 - 4.58	$p = 0.0807$
	Limpeza das mãos e EPI	Sim 75.00 (63/84) Não 25.00 (21/84)	66.67 (36/54) 33.33 (18/54)	1.49	0.66 - 3.39	$p = 0.3347$
	Descarte de seringas	Sim 86.90 (73/84) Não 13.10 (11/84)	35.19 (19/54) 64.81 (35/54)	11.94	4.89 - 31.34	$p < 0.0001$
	Descarte de restos placentários	Sim 51.19 (43/84) Não 48.81 (41/84)	20.37 (11/54) 79.63 (43/54)	4.06	1.76 - 9.96	$p = 0.0003$
	Vacinação	Sim 90.48 (76/84) Não 9.52 (8/84)	100.00 (54/54) 0.00 (0/54)	0	0 - 0.87	$p = 0.0224$
	Quarentena	Sim 48.81 (41/84) Não 51.19 (43/84)	50.00 (27/54) 50.00 (27/54)	0.95	0.45 - 1.99	$p = 1$
	Separação de animais doentes	Sim 76.19 (64/84) Não 23.81 (20/84)	25.93 (14/54) 74.07 (40/54)	8.96	3.89 - 21.82	$p < 0.0001$
	Separação de animais por idade	Sim 38.10 (32/84) Não 61.90 (52/84)	12.96 (7/54) 87.04 (47/54)	4.09	1.58 - 12.05	$p = 0.0017$
	Realização de testes de diagnóstico	Sim 89.29 (75/84) Não 10.71 (9/84)	35.19 (19/54) 64.81 (35/54)	14.95	5.86 - 41.91	$p < 0.0001$
	Cuidado com animais silvestres	Sim 64.29 (54/84) Não 35.71 (30/84)	38.89 (21/54) 61.11 (33/54)	2.81	1.32 - 6.09	$p = 0.0049$
	Realização de controle de pragas	Sim 94.05 (79/84) Não 5.95 (5/84)	46.30 (25/54) 53.70 (29/54)	17.85	6.01 - 65.47	$p < 0.0001$

IC = Intervalo de confiança; OR=*Odds Ratio*; Chi<sup>2</sup> = Teste Qui-quadrado de Pearson com correção de Yates/Teste Exato de Fisher representado pelo valor de  $p$  (valores significativos  $p < 0.05$ ); MV=Médicos Veterinários; PR=Produtores Rurais



**Figura 2:** Distribuição em escala *Likert* de questões relacionadas a práticas de biosseguridade para médicos veterinários ( $n=84$ ) do estado de Pernambuco.

## Discussão

Em relação às características de identificação dos participantes observou-se diferença significativa para a variável gênero ( $p = 0.003$ ) em que o grupo dos produtores rurais somente 12.96% se consideravam mulheres enquanto o percentual feminino foi de 36.90% para médicos veterinários. Isso pode demonstrar que a atividade pecuária ainda é considerada uma atividade masculina, e a inserção de mulheres no campo e na pecuária ainda é discriminada e limitada (Langbecker; Lopes, 2018), embora o acesso às mulheres a esse tipo de atividade tenha aumentado ao longo dos anos, a maioria dos indivíduos envolvidos com tal ocupação ainda pertence ao gênero masculino (Brasil, 2017). Porém, as mulheres podem desempenhar suas funções, trabalhar com criações de animais e gerenciar uma carreira na medicina veterinária tão bem quanto àqueles que se consideram homens (Langbecker; Lopes, 2018).

Sobre o tempo de serviço de MV, a maioria (77.38%,  $n=65/84$ ) era de profissionais que possuíam entre 0 a 10 anos de profissão, enquanto a faixa de tempo de trabalho mais frequente entre PR foi entre 6 a 20 anos de serviço (59.26%,  $n=32/54$ ) com  $p < 0.05$ . A disparidade entre o tempo de serviço dos dois grupos, pode estar relacionada ao fato de muitos produtores rurais trabalham na área desde a juventude ou até mesmo desde a infância, já que a pecuária pode ser considerada uma atividade de subsistência e dessa forma favorecer a introdução e sucessão de jovens nesse trabalho (Boscardin et al., 2021). Tendo em vista que os médicos veterinários necessitam concluir sua graduação para iniciar seus trabalhos a campo, essa condição pode ter favorecido a participação de profissionais com tempo de carreira menor comparado aos produtores rurais. Além disso, a maioria dos questionários a esses profissionais foi aplicada através de um formulário eletrônico, mesmo com a difusão do acesso à internet e redes sociais, a maioria dos usuários continua sendo de pessoas mais jovens, o que pode ter influenciado os resultados desse estudo (Kachar, 2010; Kubota et al., 2016).

Os resultados obtidos com as perguntas relacionadas ao item “conhecimento sobre paratuberculose” demonstram que 44.44% (Tabela 2) dos 54 produtores rurais analisados não conheciam a paratuberculose e sobre algumas características da doença como transmissão, prevenção e sinais clínicos. É importante destacar que 53.70% selecionaram o contato com secreções como a principal forma de transmissão do agente, bem como a forma de prevenção de paratuberculose seria evitar o contato com secreções de animais doentes 48.15% ( $n=26/54$ ), associado ao fato dos sinais clínicos serem respiratórios 53.70% ( $n=29/54$ ). Contudo, diante da falta de informação acerca da paratuberculose, os participantes do grupo de produtores rurais associaram a enfermidade a uma doença respiratória como a tuberculose (Kuria, 2019). Devido

à similaridade dos nomes das doenças essa confusão pode ocorrer, além disso, ambas apresentam como agente etiológico micobactéria do complexo bacilo álcool-ácido resistente (BAAR) (Kuria, 2019; Timms et al., 2011), contudo, a forma de transmissão, patogenia e sinais clínicos observados são completamente distintas (Whittington et al., 2017).

Embora alguns veterinários apontassem outras formas de transmissão do agente como contato com secreções 19.05% ( $n=16/84$ ), vetores 2.38% ( $n=2/84$ ), coito 1.19% ( $n=1/84$ ) e agulhas 1.19% ( $n=1/84$ ), a maioria dos médicos veterinários respondeu de forma assertiva as perguntas relacionadas à paratuberculose associando a doença à problemas digestivos 85.71% ( $n=72/84$ ) e o contato com fezes contaminadas como formas de transmissão do agente 76.19% ( $n=64/84$ ). Contudo, destaca-se que a qualificação profissional sobre paratuberculose para os médicos veterinários pode ser deficiente, em contrapartida, o fato da doença clínica não ser tão comum na rotina clínica de ruminantes pode ser um dos motivos para o desconhecimento sobre o assunto. Por isso é necessário que cursos de atualização sejam realizados periodicamente para esses profissionais a fim de favorecer o conhecimento da paratuberculose e sobre práticas de biossegurança aplicadas à essa enfermidade e de outras doenças infecciosas (Hayes et al., 2018; Morel, 2020; Wenzel; Nusbaum 2007).

Segundo o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a paratuberculose é uma doença de notificação obrigatória no Brasil em casos confirmados da doença (Brasil, 2013), porém não há vacina para a enfermidade no país (Idris et al., 2021; Sweeney et al., 2012). Diante disso, sobre “notificação obrigatória”, 41.67% (MV=35/84) e 74.07% (PR=40/54) responderam que a enfermidade não era de notificação obrigatória, enquanto 8.33% (MV=7/84) e 53.70% (PR=29/54) alegaram ter vacina no Brasil para PTB (Tabela 2). A desinformação sobre a doença pode levar a conclusões precipitadas sobre esses aspectos e gerar muitas vezes casos subnotificados da infecção em ruminantes. Esse fato pode influenciar no controle da doença e interferir na implementação de programas de prevenção, por exemplo (Benjamin et al., 2010).

*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* é o agente etiológico responsável pela paratuberculose, essa bactéria pode ser encontrada nos solos e permanecer em ambiente contaminado por fezes durante anos (Timms et al., 2011). Apesar de talvez não conhecerem o nome do agente causador de PTB, a maioria dos participantes responderam que uma bactéria era a responsável pela doença 97.62% (MV) e 92.59% (PR), as categorias vírus e fungos possuíram 1.19% (MV) e 5.56% (PR) e 1.19% (MV) e 1.85% (PR), respectivamente. Doenças animais bacterianas são extremamente difundidas em todo o mundo, podendo causar diversas

enfermidades que levam a prejuízos econômicos e problemas sanitários nos rebanhos (Quinn et al., 2005).

Dentre os 138 participantes analisados, 28 (MV=22, PR=6) relataram que já tiveram ou trabalharam com casos de paratuberculose nos rebanhos que prestavam serviços. A partir disso, a análise específica para esse grupo foi realizada, onde se constatou a presença de sinais clínicos nos animais acometidos como diarreia e/ou fezes amolecidas 100.00%, emagrecimento progressivo 89.29%, diminuição ou perda da produção 82.14% ou não observação de sinais clínicos 3.57%. Com base na Organização Mundial de Saúde Animal (WOAH, 2021), a depender da espécie acometida e do estágio da infecção, esses sinais clínicos podem ser observados ou não, pois a doença apresenta um caráter crônico e subclínico. Geralmente os bovinos e bubalinos apresentam os sinais clínicos de forma mais evidente com diarreia profusa, entretanto, os pequenos ruminantes, especialmente ovinos, apresentam susceptibilidade menor a apresentação clínica da doença podendo ser observado perda de produção ou emagrecimento progressivo (Windsor, 2015).

É válido destacar nos resultados sobre as práticas de prevenção da paratuberculose que todas as variáveis dessa categoria funcionam como medidas de prevenção da paratuberculose (Roller et al., 2020; Reicks, 2019). Sendo a medida mais realizada pelos participantes com casos positivos de PTB, evitar o contato dos animais com leite e alimentos contaminados com fezes (85.71%), realizar a limpeza e descarte das fezes em local apropriado (64.29%), evitar aglomeração e superlotação do rebanho (57.14%), realização de rotação de pastagem (53.57%) e fornecimento de colostro (53.57%). Essas práticas são utilizadas para evitar a disseminação e permanência da micobactéria nos espaços onde ficam os animais, bem como ajudar a induzir a imunidade animal. Por sua vez, a realização dessas medidas também pode contribuir para a redução dos prejuízos econômicos que podem ser gerados pela infecção de *Map* nos rebanhos de ruminantes (WOAH, 2021; Roller et al., 2020).

Sobre o destino dos animais, o sacrifício foi a opção mais realizada (92.86%,  $p = 0.039$ ), já que como relatam Reddacliff et al. (2006) o descarte é realizado com o intuito de reduzir a transmissão do patógeno através do contato com água, leite e alimentos com fezes contaminadas. As opções de tratamento e isolamento também foram analisadas, contudo para a paratuberculose o tratamento pode não ser responsivo e gerar altos custos ao produtor, por isso o sacrifício dos animais acometidos é uma maneira segura para controle da infecção nos rebanhos (Sweeney et al., 2012; Whittington et al., 2019).

Entre as principais formas de diagnóstico de paratuberculose, tem-se o exame clínico-epidemiológico associado a métodos laboratoriais como a cultura fecal, a análise sorológica e molecular (WOAH, 2021). Como verificado nessa pesquisa, os médicos veterinários de forma geral acreditam que o teste confirmatório seja a inclusão de todos os testes listados anteriormente (42.43%), seguido do teste microbiológico (22.62%), sorológico (17.86%) e teste molecular (12.94%). Apesar disso, para os médicos veterinários que lidaram com casos de paratuberculose a confirmação do diagnóstico ocorreu principalmente pelo exame clínico-epidemiológico (77.27%). Isto pode indicar falhas na realização do diagnóstico da enfermidade, pois embora algumas espécies animais como bovinos e bubalinos quando acometidos com *Map* na fase clínica da doença, apresentam a diarreia como um sinal característico de identificação da paratuberculose (Windsor, 2015), a utilização de exames laboratoriais é a forma mais correta de confirmação dos casos, podendo também auxiliar a identificação de casos subclínicos (Roller et al., 2020). Ademais, achados de necropsia também são úteis para o diagnóstico do agente, já que pode ser observado um quadro de enterite granulomatosa com espessamento intestinal e infiltrados celulares (Sonawane; Tripathi, 2013).

Tendo em vista que o termo biosseguridade se refere a práticas profiláticas que evitam a entrada, permanência ou saída de patógenos dentro do rebanho (Bohner et al., 2011; Mee et al., 2012), 38.10% (MV) e 18.52% (PR) descreveram que biosseguridade estava relacionado a medidas que evitavam acidentes de trabalho, 38.10% (MV) e 62.96% (PR) a vacinação dos animais, 34.52% (MV) e 35.19% (PR) ao uso de equipamentos de proteção individual (EPI) e 79.76% (MV) e 68.52% (PR) com a opção mais correta sobre o que a biosseguridade representa. Esses resultados determinam que o conceito sobre a biosseguridade ainda não está claro entre os profissionais analisados, demonstrando também que o termo pode ser associado à palavra biossegurança, relacionada à segurança do próprio indivíduo e não prevenção de doenças em animais (Benjamin et al., 2010; Wenzel; Nusbaum 2007).

Em relação às práticas de biosseguridade, ao mesmo tempo que foi observado que 69.10% (MV) e 57.41% (PR) estavam satisfeitos com as medidas de biosseguridade realizadas, 92.80% (MV) e 94.44% (PR) acreditavam que elas poderiam ser melhoradas. É válido perceber que os profissionais tem consciência de que essas práticas são importantes para a sanidade dos animais. Ainda em relação às “práticas de biosseguridade”, exceto nas variáveis limpeza das instalações, limpeza das mãos e quarentena foram encontradas diferenças significativas entre MV e PR ( $p < 0.05$ ).

Todavia, foram verificadas maiores frequências de respostas positivas em médicos veterinários comparados aos produtores rurais, e isso pode estar relacionado ao menor conhecimento teórico sobre medidas preventivas para doenças infecciosas. A formação e qualificação profissional exige um grau de conhecimento sobre as técnicas de biossegurança responsáveis por prevenir e controlar doenças infecciosas no rebanho (Wenzel; Nusbaum 2007). No entanto, muitos produtores rurais não tem acesso ou possui acesso limitado aos conhecimentos sobre a área, fazendo com que ocorra mais falhas sobre questões de manejo e higiene na criação de ruminantes (Sayers et al., 2014). Por isso, a comunicação adequada e a troca de informações entre MV e PR pode melhorar a implementação e manutenção de medidas de biossegurança (Benjamin et al., 2010; Wenzel; Nusbaum 2007).

Contudo, algumas práticas são bem difundidas entre os profissionais que apresentem um menor grau de qualificação, já que são hábitos comuns no manejo e higiene dos rebanhos como limpeza e desinfecção das mãos e instalações (Sayers et al., 2014; Wenzel; Nusbaum 2007). O uso de EPI foi indicado como uma forma de prevenção de doenças 94.10% (MV) e 100.00% (PR), porém alguns veterinários citaram que o uso de EPI pode funcionar como fômites e auxiliar a transmissão de agentes infecciosos. Entretanto, isso só poderá ocorrer caso outras práticas de biossegurança não estejam sendo realizadas de maneira correta, como a limpeza dos equipamentos e a troca entre animais ou rebanhos (Wenzel; Nusbaum 2007). Sobre o período de quarentena 100% (MV) e 96.30% (PR) confirmaram que a quarentena é um período de separação de animais recém-adquiridos ao rebanho. A realização de quarentena permite a redução da introdução de patógenos nos rebanhos, já que o *status* sorológico de animais recém-adquiridos muitas vezes é desconhecido e caso estejam infectados podem infectar outros animais do rebanho (Benjamin et al., 2010; Pieper et al., 2015).

Reforçando a ideia de que o aperfeiçoamento profissional e a troca de informações referente às medidas de biossegurança são instrumentos básicos de promoção de educação em saúde (Hayes et al., 2018; Morel, 2020), foi observado nesse estudo que 33.33% dos produtores rurais ( $n=18/54$ ) nunca receberam informações ou orientações sobre a realização dessas medidas na propriedade. Contudo, aos que já receberam essas informações, destaca-se a ação de médicos veterinários em 59.26% ( $n=32/54$ ), cursos e palestras com 27.78% ( $n=15/54$ ) e em menor interação aos proprietários das fazendas 1.85% ( $n=1/54$ ) e empregados antigos 1.85% ( $n=1/54$ ). A falta de acesso a esses meios de conhecimento pode prejudicar o controle de doenças no rebanho, gerando impactos sanitários significativos (Brennan; Christley, 2013).

## Conclusão

Os resultados dessa pesquisa demonstram a escassez de conhecimento técnico sobre paratuberculose entre médicos veterinários e produtores rurais avaliados no estado de Pernambuco, Brasil. Além disso, foram identificadas falhas sobre o conhecimento das medidas de biossegurança realizadas para prevenção de doenças infecciosas por parte dos médicos veterinários e produtores rurais analisados.

Desta forma, sugere-se a implementação de um programa de educação em saúde e continuada sobre paratuberculose e sobre práticas de biossegurança para os produtores rurais e especialmente para os médicos veterinários que deveriam ser os profissionais mais capacitados sobre o assunto. A partir dessa implementação, custos diretos e indiretos determinados pela paratuberculose e conseqüentemente por outras doenças infecciosas poderiam ser reduzidos.

## Referências

Benjamin, L. A., Fosgate, G. T., Ward, M. P., Roussel, A. J., Feagin, R. A., & Schwartz, A. L. Attitudes towards biosecurity practices relevant to Johne's disease control on beef cattle farms. **Preventive veterinary medicine**, v. 94, n. 3-4, p. 222-230, 2010.

Bohner, T. O. L., Bohner, L. O. L., Cassol, P. B., Pessoa, A. C. M. Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar em contribuição à educação ambiental. **REGET/UFSM**, v. 4, n. 4, p. 380-6, 2011.

Boscardin, Mariele et al. Permanência da juventude no meio rural: para além da sucessão geracional tradicional. **Eutopía: Revista de Desarrollo Económico Territorial**, n. 19, p. 119-135, 2021.

Brasil. Ministério da agricultura pecuária e abastecimento. Instrução normativa nº 50, de 24 de setembro de 2013. 2013. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa/imagens/IN502013.pdf>.

Brasil. Ministério da Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Diário Oficial da União, 2012. Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>. Acesso em: 27 jul. 2023.

Brasil. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). IBGE Cidades@, 2022. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pe/panorama>. Acesso em: 27 jul. 2023.

Brasil. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2017. Censo Agro 2017. Disponível em: [https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo\\_agro/resultadosagro/produtores.html](https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/produtores.html). Acesso em 01 de agosto de 2023.

Brennan, M. L., Christley, R. M. Cattle producers' perceptions of biosecurity. **BMC veterinary research**, v. 9, n. 1, p. 1-8, 2013.

Brito, M. F.; Mota, R. A.; Yamasaki, E. M. **Paratuberculose: perguntas e respostas**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2014. Disponível em: <http://institucional.ufrj.br/sap/files/2014/12/cartilha-PARATUBERCULOSE-Perguntas-e-Respostas-out-2014.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2021.

Bryer, Jason; Speerschneider, Kimberly; Bryer, Maintainer Jason. Package 'likert'. **Likert: Analysis and Visualization Likert Items (1.3. 5)**[Computer software], 2016.

Chaubey, Kundan Kumar et al. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*—an important food borne pathogen of high public health significance with special reference to India: an update. **Veterinary Quarterly**, v. 37, n. 1, p. 282-299, 2017.

Corder, Gregory W.; FOREMAN, Dale I. Nonparametric statistics for non-statisticians. 2011.

Eslami, Majid et al. *Mycobacterium avium paratuberculosis* and *Mycobacterium avium* complex and related subspecies as causative agents of zoonotic and occupational diseases. **Journal of cellular physiology**, v. 234, n. 8, p. 12415-12421, 2019. <https://doi.org/10.1002/jcp.28076>.

Hayes, L. et al. Insights into the knowledge, practices and training needs of veterinarians working with smallholder livestock producers in Australia. **Preventive veterinary medicine**, v. 154, p. 54-62, 2018.

Idris, S. M. et al. Paratuberculosis: The Hidden Killer of Small Ruminants. **Animals**, v. 12, n. 1, p. 1-18, dez. 2021.

Jordan, A. G., Citer, L. R., Mcaloon, C. G., Graham, D. A., Sergeant, E. S. G., More, S. J. Johne's disease in Irish dairy herds: considerations for an effective national control programme. **Irish Veterinary Journal**, v. 73, n. 1, p. 1-14, 2020.

Kachar, Vitória. Envelhecimento e perspectivas de inclusão digital. **Revista Kairós-Gerontologia**, v. 13, n. 2, 2010.

Kubota, Luis Claudio et al. Uso de tecnologias da informação e comunicação pelos jovens brasileiros. **Dimensões da experiência juvenil brasileira e novos desafios às políticas públicas. Brasília: IPEA**, p. 199-220, 2016.

Kuria, Joseph KN. Diseases caused by Bacteria in cattle: tuberculosis. In: Bacterial cattle diseases. **IntechOpen**, 2019.

Langbecker, Tatielle Belem; LOPES, Marta Júlia Marques. Sentidos do combinar e compartilhar: desigualdades e situações de vulnerabilidade de mulheres na pecuária familiar. **Revista Grifos**, v. 27, n. 44, p. 173-192, 2018.

Mee, J. F., Geraghty, T., O'Neill, R., More, S.J. Bioexclusion of diseases from dairy and beef farms: risks of introducing infectious agents and risk reduction strategies. **The Veterinary Journal**, v. 194, n. 2, p. 143-150, 2012.

Morel, Ana Paula Massadar. Da educação sanitária à educação popular em saúde: reflexões sobre a pandemia do coronavírus. **Revista estudos libertários**, v. 2, n. 3, p. 30-38, 2020.

Pieper, Laura et al. Evaluation of the Johne's disease risk assessment and management plan on dairy farms in Ontario, Canada. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 10, p. 6792-6800, 2015.

Quinn, P. J. et al. Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. **Artmed Editora**, 2005.

Rasmussen, Philip et al. Economic losses due to Johne's disease (paratuberculosis) in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 104, n. 3, p. 3123-3143, 2021. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19381>.

Reddacliff, L. et al. Efficacy of a killed vaccine for the control of paratuberculosis in Australian sheep flocks. **Veterinary microbiology**, v. 115, n. 1-3, p. 77-90, 2006.

Reicks, Darwin L. Effective biosecurity to protect North American studs and clients from emerging infectious disease. **Theriogenology**, v. 137, p. 82-87, 2019.

- Roller, M. et al. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* Infection in Zoo Animals: A Review of Susceptibility and Disease Process. **Frontiers in Veterinary Science**, Frontiers Media S.A., 23 dez. 2020.
- Sayers, R. G., Good, M., Sayers, G. P. A survey of biosecurity-related practices, opinions and communications across dairy farm veterinarians and advisors. **The Veterinary Journal**, v. 200, n. 2, p. 261-269, 2014.
- Shephard, R. W.; Williams, S. H.; Beckett, S. D. Farm economic impacts of bovine Johne's disease in endemically infected Australian dairy herds. **Australian Veterinary Journal**, v. 94, n. 7, p. 232-239, 2016.
- Silva, Ana Paula Serafini Poeta et al. Biosecurity practices associated with influenza A virus seroprevalence in sows from southern Brazilian breeding herds. **Preventive veterinary medicine**, v. 166, p. 1-7, 2019a.
- Silva, Gustavo S. et al. Avaliação de práticas de biossegurança e desenvolvimento de um sistema de pontuação em granjas de suínos usando a teoria de resposta ao item. **Medicina veterinária preventiva**, v. 167, p. 128-136, 2019b.
- Sonawane, G. G.; Tripathi, B. N. Comparison of a quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) with conventional PCR, bacterial culture and ELISA for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in sheep showing pathology of Johne's disease. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 45, dez. 2013.
- Sweeney, R. W. et al. Paratuberculosis (Johne's disease) in cattle and other susceptible species. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 26, n. 6, p. 1239-1250, 2012.
- Timms, V. J. et al. How accurately can we detect *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection? **Journal of Microbiological Methods**, v. 85, n. 1, p. 1-8, 2011.
- Warnes, Gregory R. et al. Various R programming tools for model fitting. **R package version 2.18**, v. 1, 2018.
- Wenzel, James GW; NUSBAUM, Kenneth E. Veterinary expertise in biosecurity and biological risk assessment. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 230, n. 10, p. 1476-1480, 2007.

Whittington, R. J. et al. Case definition terminology for paratuberculosis (Johne's disease). **BMC veterinary research**, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2017.

Whittington, R. J. et al. Control of paratuberculosis: Who, why and how. A review of 48 countries. **BMC Veterinary Research** BioMed Central Ltd., 13 jun. 2019.

Windsor, P. A. Paratuberculosis in sheep and goats. **Veterinary microbiology**, v. 181, n. 1-2, p. 161-169, dez. 2015.

World Organization Animal Health. WOA. Terrestrial Manual: Chapter 3.1.15 - Paratuberculosis (Johne's disease); World Organization for Animal Health, p. 1-15, 2021. Disponível em:

[https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.01.15\\_PARATB.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.15_PARATB.pdf).

Acesso em: 02 ago. 2023.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Registra-se a primeira ocorrência de anticorpos anti-*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em ovinos no estado de Pernambuco, Brasil.

Considerando que o agente etiológico pode apresentar um potencial zoonótico e que perdas econômicas podem estar associadas a infecções subclínicas da espécie, os resultados dessa pesquisa oferecem subsídios para o conhecimento da epidemiologia da infecção por *Map* em ovinos no estado de Pernambuco.

Com a revisão sistemática pode-se observar e analisar os fatores que contribuem para as diferentes prevalências da enfermidade localizadas em diferentes regiões do mundo, propondo alternativas para minimizar os danos que a infecção nos rebanhos pode causar. Por isso, a aplicação de medidas de biossegurança é fundamental para limitar a ocorrência de infecções, bem como a realização de estudos epidemiológicos e sorológicos em rebanhos com *status* de infecção desconhecidos.

A realização de pesquisas que analisem a percepção dos profissionais da pecuária sobre doenças infecciosas é útil para entender o cenário do conhecimento geral da doença e determinar medidas profiláticas que podem ser implementadas ou reforçadas a fim de minimizar danos vinculados à presença do agente nos rebanhos.

Diante disso, a implementação de programas de controle e da realização de educação em saúde aos profissionais que lidam com ruminantes são alternativas que podem favorecer a troca de informações e conhecimentos, minimizando os riscos e desafios relacionados à infecção por *Map* no estado de Pernambuco.

A partir da capacitação dos profissionais, realização de cursos de atualização e elaboração e entrega de materiais educativos sobre o tema para profissionais e o público em geral, pode-se divulgar pesquisas e promover o bem-estar e saúde dos rebanhos e de todos aqueles que lidam com esses animais. Todas essas atividades reunidas e associadas aos órgãos públicos de saúde e agropecuários, aos programas de graduação e de pós-graduação são imprescindíveis para o melhor retorno socioeconômico e epidemiológico dessa e de outras enfermidades relevantes para a produção animal.

## **5.1. Perspectivas**

Sugere-se a realização de novos inquéritos epidemiológicos nas diferentes espécies susceptíveis com o objetivo de determinar a prevalência real da paratuberculose no rebanho nacional.

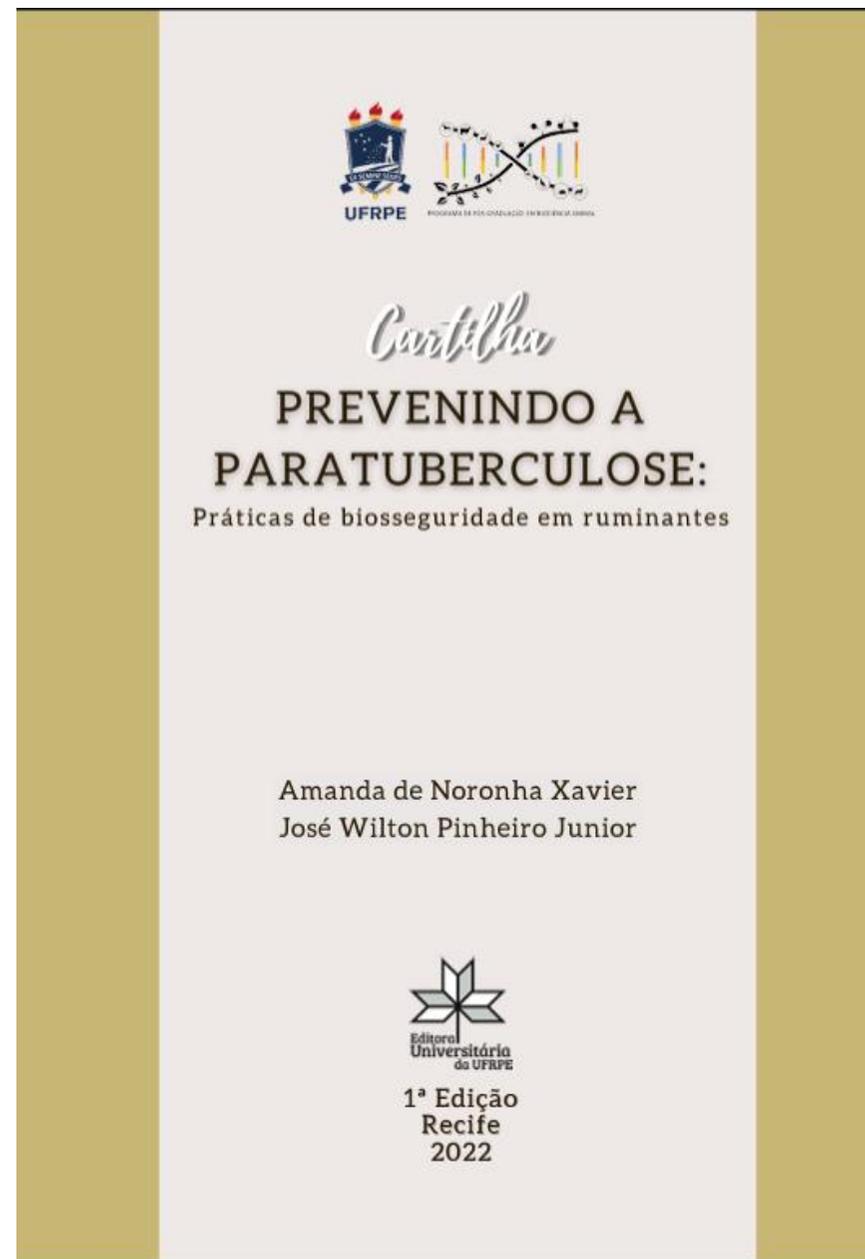
Estimular a criação de linhas de pesquisa em programas de graduação e pós-graduação que visem às práticas de biossegurança aplicadas à prevenção de doenças infecciosas como forma de incentivar o conhecimento sobre o tema.

Além disso, sugere-se a implementação de um programa de educação em saúde pelos órgãos de defesa sanitária em parceria com Instituições de ensino e pesquisa. Programa direcionado para médicos veterinários e produtores rurais sobre práticas de biossegurança aplicadas à prevenção de doenças infecciosas em ruminantes, especialmente a paratuberculose com o objetivo de contribuir para disseminação do conhecimento em diferentes setores de saúde agropecuários do estado, podendo abranger outras regiões do país.

## **Apêndice**

Material didático produzido e publicado pela Editora Universitária da UFRPE

**Prevenindo a paratuberculose: Práticas de biossegurança em ruminantes  
(Cartilha)**





**Prof. Marcelo Brito Carneiro Leão**  
Reitor da UFRPE

**Prof. Gabriel Rivas de Melo**  
Vice-Reitor

**Antônio Marcelo Freitas Athayde Cavalcanti**  
Diretor da Editora da UFRPE

**Edson Cordeiro do Nascimento**  
Diretor do Sistema de Bibliotecas da UFRPE

**Marco Aurélio Cabral Pereira**  
Chefe de Produção Gráfica da Editora UFRPE

**José Abmael de Araújo**  
Coordenador Administrativo da Editora UFRPE



Editora Universitária da UFRPE  
Endereço: Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n,  
Bairro de Dois Irmãos CEP 52171-900 Recife - PE  
<http://www.editora.ufrpe.br/>

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

X3c Xavier, Amanda de Noronha  
Cartilha: prevenindo a paratuberculose: práticas de  
biossegurança em ruminantes / Amanda de Noronha Xavier,  
José Wilton Pinheiro Junior. - 1. ed. Recife: EDUFRPE, 2022.  
22 p. : il.

Inclui bibliografia.

1. Paratuberculose 2. Ruminantes - Doenças  
3. Biossegurança 4. Doenças transmissíveis - Prevenção  
I. Pinheiro Junior, José Wilton II. Título

ISBN N° 978-65-86547-58-0

CDD 636.08969

## PREVENINDO A PARATUBERCULOSE:

Práticas de biossegurança em ruminantes

**Amanda de Noronha Xavier**

Doutoranda no programa de Pós-Graduação em  
Biociência Animal

Departamento de Medicina Veterinária (DMV)  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
(UFRPE)

**José Wilton Pinheiro Junior**

Docente do curso de Medicina Veterinária  
Departamento de Medicina Veterinária (DMV)  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
(UFRPE)



PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIA ANIMAL

## PREFÁCIO

Sinto-me honrado com o convite dos organizadores, Amanda de Noronha Xavier e José Wilton Pinheiro Júnior para prefaciara cartilha: "*Prevenindo a Paratuberculose: Práticas de Biossegurança em Ruminantes*". Esta obra certamente contribuirá para sedimentar os conhecimentos sobre a Paratuberculose em Ruminantes. Esta enfermidade infectocontagiosa, silenciosa e negligenciada que acomete os ruminantes e que causa severos prejuízos à pecuária nacional, necessita ser olhada de forma diferenciada para ampliar os conhecimentos e levar à comunidade acadêmica as informações necessárias para seu diagnóstico e controle. A formação na área de pesquisa e extensão dos organizadores desta cartilha favoreceu o enriquecimento das informações técnicas apresentadas de uma forma clara e acessível à diferentes públicos, principalmente para alunos de graduação e produtores rurais para facilitar a compreensão de seu conteúdo.

Esta cartilha engloba informações de forma objetiva e clara sobre a transmissão da bactéria, os sinais clínicos, os métodos de diagnóstico, os prejuízos econômicos, medidas de prevenção e biossegurança. Aliado à necessidade do aumento da produção mundial de alimentos de qualidade é importante dar atenção às enfermidades crônicas que ocorrem em ruminantes no país, pois estas comprometem a produtividade dos rebanhos.

Destaco que iniciativas como esta enriquecem o cenário de informações da literatura técnica na Área de Medicina Veterinária.

Por estas razões, é com grande satisfação que a apresento e recomendo à comunidade acadêmica nacional, desejando a todos uma excelente leitura.

### **Prof. Rinaldo Aparecido Mota**

*Pós-Doutor em Patologias Reprodutivas de Ruminantes (Universidade Complutense de Madrid-Espanha); Doutor, Mestre e Especialista em Ciências Veterinárias, Microbiologia Veterinária, Doenças Infecciosas dos Animais Domésticos (UFRRJ e UNESP-Botucatu); Professor Titular de Bacterioses dos Animais Domésticos (UFRPE); Coordenador dos Programas de Pós-graduação da Área de Medicina Veterinária-CAPES- 2018-2022 .*

# RUMINANTES

Os animais de produção – caprinos, ovinos, bovinos e bubalinos – são fundamentais para a pecuária brasileira. Esses ruminantes fornecem matéria-prima para o consumo através de carne, leite e seus derivados.



PREVENINDO  
A PARATUBERCULOSE:  
Práticas de biossegurança  
em ruminantes

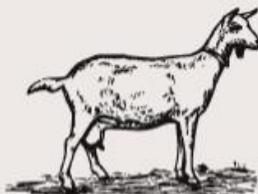
Além disso, podem fornecer outros insumos como lã e couro, e a força para auxílio ao homem do campo.



Esses animais são capazes de produzir mesmo em situações adversas como alterações climáticas ou escassez de alimentos.

Contudo, mesmo sendo tão resistentes, os ruminantes podem ser acometidos por doenças infecciosas, o que pode causar sérios impactos econômicos à propriedade rural pelos prejuízos ocasionados.

## DOENÇAS INFECCIOSAS

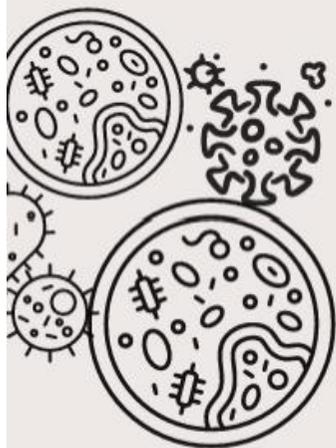


PREVENINDO  
A PARATUBERCULOSE:  
Práticas de biossegurança  
em ruminantes

Os prejuízos econômicos causados pelo acometimento de doenças no rebanho podem ocorrer através da diminuição ou perda de produção animal, seja ela de carne, leite ou mista.

Intoxicação, doença metabólica, genética ou mesmo infecção por agentes infecciosos como vírus, bactérias, fungos e parasitos são alguns exemplos de doenças que acometem os animais de produção.

Na maioria dos casos, os agentes infecciosos são responsáveis pela maior parte das doenças em ruminantes devido aos inúmeros tipos de microrganismos existentes.



## PARATUBERCULOSE

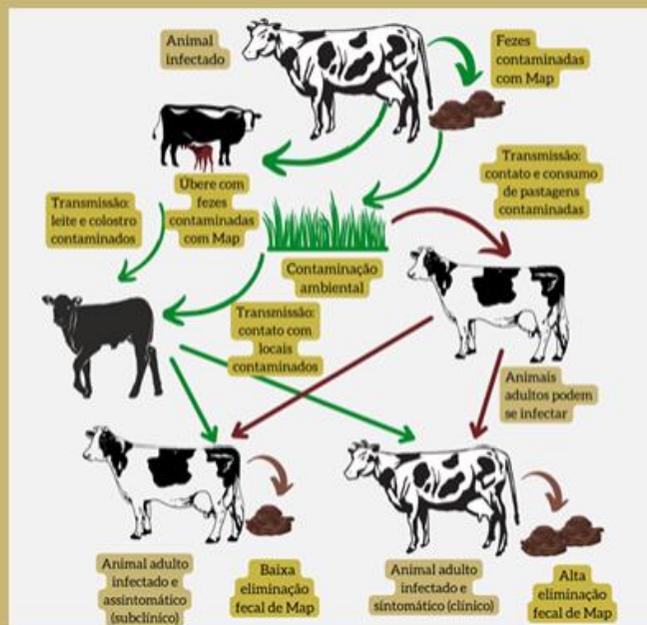
Dentre as principais doenças infecciosas em ruminantes, tem-se a paratuberculose.

Também conhecida como Doença de Johne, a paratuberculose acomete predominantemente ruminantes e pode causar sérios prejuízos econômicos devido à diminuição da produção animal através da redução da conversão alimentar e produção de leite, e sinais clínicos como diarreia e perda de peso.

Essa doença é causada pela bactéria *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) que pode ser transmitida de forma oro-fecal, pelo consumo de água, colostro ou leite contaminado com fezes de animais infectados, sendo essa a principal via de transmissão do agente.

PREVENINDO  
A PARATUBERCULOSE:  
Práticas de biossegurança  
em ruminantes

## TRANSMISSÃO DA PARATUBERCULOSE



O período de incubação da doença é longo. Animais jovens são os mais suscetíveis e, com isso, se infectam nos primeiros meses de vida e podem desenvolver a doença clínica quando adultos (>2 anos).

A transmissão do agente ao recém-nascido pode ocorrer pelo consumo de leite ou colostro de fêmeas infectadas ou com úbere sujo de fezes. Já em animais adultos, o consumo de água e alimentos contaminados com *Map* é a principal forma de transmissão.

PREVENINDO A PARATUBERCULOSE:  
Práticas de biossegurança em ruminantes

PREVENINDO A PARATUBERCULOSE  
Práticas de biossegurança em ruminantes



## SINAIS CLÍNICOS DA PARATUBERCULOSE

A identificação de animais infectados se torna difícil, pois a maioria não apresenta sinais clínicos da infecção, ou seja, são considerados animais subclínicos.

Essa particularidade, ocorre devido às características da doença, que apresenta caráter crônico. Dessa forma, mesmo sendo infectados muito jovens, a maioria dos animais só apresentam sinais clínicos quando adultos.

Entretanto, quando os animais apresentam a forma clínica, são observados sinais clínicos inespecíficos que variam de acordo com a espécie animal, como observado na tabela abaixo:

ESPÉCIE	SINAIS CLÍNICOS
Bovina/ Bubalina	Perda de peso, diarreia crônica intermitente, desidratação. As fezes podem ser expelidas na forma de jato. Não há alteração de apetite.
Caprina/ Ovina	Emagrecimento progressivo podendo levar à caquexia. Edema submandibular, anemia e fezes amolecidas podem ser encontradas.



## DIAGNÓSTICO DA PARATUBERCULOSE

O diagnóstico da paratuberculose torna-se difícil devido à falta ou inespecificidade dos sinais clínicos e à escassez de técnicas de diagnóstico que consigam detectar todas as fases da doença. Por isso, deve-se analisar todos os aspectos epidemiológicos relacionados à paratuberculose.

Animais infectados de forma subclínica são os mais difíceis de diagnosticar e possivelmente testarão negativo por um período indeterminado.

Geralmente, quando um animal está infectado por *Map* de forma sintomática (clínica), muitos outros animais também estarão infectados de forma assintomática (subclínica) como demonstrado na figura abaixo:



PREVENINDO A PARATUBERCULOSE:  
Práticas de biossegurança em ruminantes

## DIAGNÓSTICO DA PARATUBERCULOSE

PREVENINDO  
A PARATUBERCULOSE:  
Práticas de biossegurança  
em ruminantes

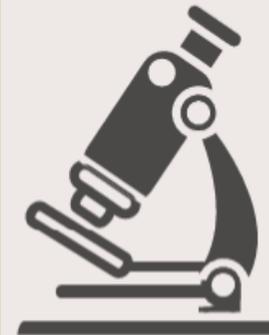
O diagnóstico clínico-epidemiológico associado ao laboratorial é essencial para identificação de paratuberculose, já que os sinais clínicos, quando ocorrem, podem ser confundidos com outras doenças.

Os principais materiais biológicos para coleta e realização de testes de diagnóstico podem ser fezes, soro sanguíneo e leite.

Pode ser realizada a identificação de anticorpos em leite e soro de animais com testes sorológicos (teste de triagem), como o ensaio imunoenzimático (ELISA); ou pela detecção de *Map* nas fezes ou no leite usando cultura microbiológica e técnicas moleculares (testes confirmatórios), como reação em cadeia da polimerase (PCR).

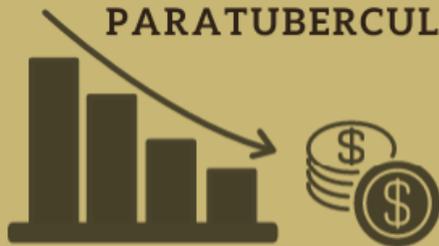
### A PARATUBERCULOSE É UMA DOENÇA DE NOTIFICAÇÃO OBRIGATÓRIA

Em caso de diagnóstico confirmado da doença notificar ao órgão de fiscalização agropecuária do estado.



PARATUBERCULOSE

## PREJUÍZOS ECONÔMICOS DA PARATUBERCULOSE



Diversas perdas econômicas para a pecuária podem ser ocasionadas pela paratuberculose no rebanho. Dentre os principais prejuízos econômicos, destacam-se:

- Diminuição da produtividade;
- Redução da conversão alimentar;
- Diminuição da imunidade animal e ocorrência de infecções secundárias;
- Aumento da taxa de descarte de animais;
- Aumento de taxas de infertilidade;
- Aumento do custo com diagnósticos e monitoramento da infecção.

Por isso, a utilização de medidas de controle e prevenção que são conhecidas como práticas de biossegurança, na propriedade rural, devem ser implementadas e realizadas a fim de reduzir os danos causados por paratuberculose em rebanhos de ruminantes.

PREVENINDO  
A PARATUBERCULOSE:  
Práticas de biossegurança  
em ruminantes



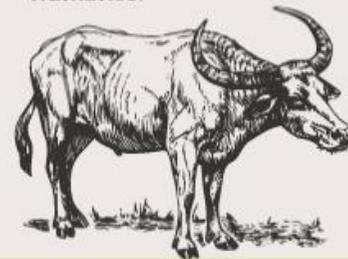
## PARATUBERCULOSE

Vale ressaltar que para a paratuberculose não há tratamento e animais com sinais clínicos acentuados da doença devem ser descartados. O restante dos animais pode debelar a infecção sem maiores problemas ao rebanho.

ZOONOSE?  
ZOONOSE?  
ZOONOSE?

Além disso, a paratuberculose não é considerada, até então, uma zoonose (doença transmitida dos animais para os humanos e vice-versa).

Contudo, alguns estudos associam *Map* à doença de Crohn que causa um grave quadro de enterite em humanos.



## COMO PREVENIR?

Como forma de prevenção e controle da doença podem ser aplicadas medidas de biossegurança que garantem a sanidade do rebanho e qualidade dos produtos de origem animal.



PREVENINDO  
A PARATUBERCULOSE:  
Práticas de biossegurança  
em ruminantes

## O QUE É BIOSSEGURIDADE?

A biosseguridade na produção rural pode ser considerada como a utilização de medidas de segurança que proporcionam sanidade aos animais, prevenindo doenças no rebanho e conseqüentemente evitando perdas econômicas.

A utilização dessas práticas visa prevenir a entrada, disseminação e saída de agentes infecciosos no rebanho, garantindo o bem-estar animal e prevenindo riscos à saúde animal e pública.

Essas práticas devem ser realizadas por todos os que lidam com animais de produção, sejam produtores rurais, médicos veterinários, tratadores, técnicos agropecuários, entre outros.



PREVENINDO  
A PARATUBERCULOSE  
Práticas de biosseguridade  
em ruminantes

## POR QUE UTILIZAR BIOSSEGURIDADE?

Além de evitar a ocorrência de doenças infecciosas como a paratuberculose, também podem prevenir outros agravos de risco à saúde pública, já que diversas zoonoses ocorrem em animais de produção.

Para se obter uma propriedade livre de paratuberculose e conseqüentemente livre de outras doenças infecciosas no rebanho, é necessário que sejam adotadas permanentemente práticas de biosseguridade.

Se bem realizada, a biosseguridade é um grande auxílio para reduzir perdas econômicas causadas por agentes infecciosos dentro do rebanho.

Além de práticas de higiene, muitas outras orientações devem ser seguidas para prevenir a paratuberculose.



PREVENINDO  
A PARATUBERCULOSE  
Práticas de biosseguridade  
em ruminantes

## MEDIDAS DE BIOSSEGURIDADE: LIMPEZA E HIGIENE



Essas medidas visam reduzir a contaminação ambiental, principalmente de fezes e conseqüentemente evitar a transmissão de *Map*. As principais medidas a serem adotadas são:

- Lavar as mãos sempre que manusear os animais;
- Limpeza e higiene das instalações onde os animais permanecem. O ideal é que essa limpeza seja realizada diariamente;
- Uso adequado dos equipamentos de proteção individual (EPIs), que incluem luvas, máscaras, botas, aventais, dentre outros. Deve ser realizada a troca ou lavagem desses equipamentos periodicamente e seu uso deve ser limitado ao ambiente de trabalho;
- Realizar a limpeza do úbere e dos tetos das fêmeas quando sujos. Para realização de ordenha, limpar tetos e ordenhadeiras (quando utilizadas);
- Limpeza dos comedouros e bebedouros e dos locais onde a água e os alimentos ficam armazenados.

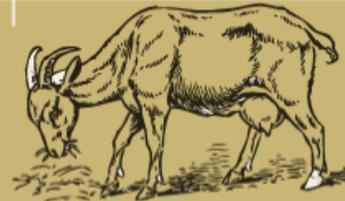
**PREVENINDO A PARATUBERCULOSE:**  
Práticas de biosseguridade em ruminantes



## MEDIDAS DE BIOSSEGURIDADE CUIDADOS NO MANEJO

Boas medidas de manejo também estão incluídas como práticas de biosseguridade e são importantes para prevenir e controlar a paratuberculose no rebanho:

- Realizar o descarte apropriado das fezes dos animais do rebanho;
- Respeitar o manejo adequado dos lotes do rebanho, separando jovens dos adultos;
- Utilizar colostro de boa qualidade, procedente de fêmeas sadias ou de banco de colostro para os animais recém-nascidos;
- Fornecer água e alimento de boa qualidade, sem resquícios de fezes ou outras secreções e excreções de animais doentes;
- Utilizar piquete maternidade para fêmeas e recém-nascidos. O local deve ser um ambiente limpo com acesso à água e alimentação de qualidade.



**PREVENINDO  
A PARATUBERCULOSE:**  
Práticas de biosseguridade  
em ruminantes

BIOSSEGURIDADE



## MEDIDAS DE BIOSSEGURIDADE: CUIDADOS SANITÁRIOS

As práticas sanitárias proporcionam a manutenção do rebanho sempre saudável, evitando a entrada, permanência e saída de agentes infecciosos como *Map*.

Realizar testes sorológicos regulares no rebanho e especialmente em animais recém-adquiridos

Realizar quarentena de animais doentes ou recém-adquiridos ao rebanho

Separar animais doentes de animais saudáveis, principalmente com suspeita de paratuberculose

Descartar animais com a doença clínica ou com diagnóstico confirmatório de paratuberculose

Em casos de animais suspeitos de paratuberculose, procurar assistência veterinária

PREVENINDO A PARATUBERCULOSE:  
Práticas de biosseguridade em ruminantes

## PARATUBERCULOSE OUTRAS INFORMAÇÕES

Atualmente, ainda não há vacinas disponíveis no Brasil para a paratuberculose. Dessa forma, a melhor e mais econômica forma de prevenção da doença são as práticas de biosseguridade aplicadas à propriedade rural e que estão descritas nesta cartilha.

Boas práticas de manejo sanitário podem favorecer a sanidade do rebanho, minimizando a disseminação de patógenos, como *Map* causador de paratuberculose.

PRÁTICAS DE BIOSSEGURIDADE



REBANHO LIVRE DE DOENÇAS

## RECADO IMPORTANTE!

Um rebanho saudável produz mais e com maior qualidade. O uso de boas práticas de biosseguridade podem evitar prejuízos desnecessários e gerar maior rendimento ao produtor rural.



PREVENINDO A PARATUBERCULOSE:  
Práticas de biosseguridade em ruminantes

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRITO, M. F.; MOTA, R. A. e YAMASAKI, E. M. Paratuberculose: perguntas e respostas. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2014. Disponível em: <http://institucional.ufrpe.br/sap/files/2014/12/cartilha-PARATUBERCULOSE-Perguntas-e-Respostas-out-2014.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2022.

SAYERS, R. G.; GOOD, Margaret; SAYERS, G. P. A survey of biosecurity-related practices, opinions and communications across dairy farm veterinarians and advisors. *The Veterinary Journal*, v. 200, n. 2, p. 261-269, 2014.

SILVA, Ana Paula Serafini Poeta et al. Biosecurity practices associated with influenza A virus seroprevalence in sows from southern Brazilian breeding herds. *Preventive veterinary medicine*, v. 166, p. 1-7, 2019.

WHITTINGTON, Richard et al. Control of paratuberculosis: who, why and how. A review of 48 countries. *BMC veterinary research*, v. 15, n. 1, p. 1-29, 2019.



UFPE

## PREVENINDO A PARATUBERCULOSE: Práticas de biosseguridade em ruminantes



Acesse nosso site!



Editora  
Universitária  
da UFPE

ISBN 978-85-90547-58-0



9 786586 547580