



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ
CAMPUS PAULISTANA
CURSO DE BACHARELADO EM ZOOTECNIA

BARBARA LUANNA RIBEIRO LUNA

ANÁLISE DE LESÕES INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS ASSOCIADAS A
***MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. *PARATUBERCULOSIS* EM CAPRINOS E**
OVINOS NO SEMIÁRIDO DO PIAUÍ

PAULISTANA-PI

2022

BARBARA LUANNA RIBEIRO LUNA

ANÁLISE DE LESÕES INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS ASSOCIADAS
A *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. *PARATUBERCULOSIS* EM
CAPRINOS EOVINOS NO SEMIÁRIDO DO PIAUÍ

Trabalho de Conclusão de Curso
(artigo científico) apresentado como
exigência parcial para obtenção do
diploma do Curso de bacharelado em
zootecnia do Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia do
Piauí, Campus Paulistana.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Dayseanny
Oliveira Bezerra.

PAULISTANA-PI

2022

Catálogo na Publicação (CIP)

Ficha catalográfica elaborada por: Edna Ferreira de Oliveira (Bibliotecária) -
CRB-3/1621

L479a Luna, Bàrbara Luanna Ribeiro

Análise de lesões inflamatórias intestinais associadas a *microbacterium avium subs. Paratuberculosis* em caprinos e ovinos no semiárido do Piauí. / Bàrbara Luanna Ribeiro Luna . – Paulistana, PI: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, 2022.

26 f. il;

Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Campus Paulistana Bacharelado em Zootecnia, 2022.

Orientadora: Profa. Dra. Dayseanny Oliveira Bezerra.

.

1. Bacilo ácido-álcool resistente .
2. Paratuberculose .
3. Ziehl-neelsen .
4. Zootecnia. I. Título.

CDD 636

BARBARA LUANNA RIBEIRO LUNA

ANÁLISE DE LESÕES INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS ASSOCIADAS A
MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSP. *PARATUBERCULOSIS* EM CAPRINOS E
OVINOS NO SEMIÁRIDO DO PIAUÍ

Trabalho de Conclusão de Curso (artigo científico) apresentado como exigência parcial para obtenção do diploma do Curso de bacharelado em zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Campus Paulistana.

Data de aprovação: 04/07/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr^a. Dayseanny Oliveira Bezerra (Orientadora)
Instituto Federal do Piauí-Campus Paulistana (IFPI)

Prof. Dr. Wandemberg Rocha Freitas
Instituto Federal do Piauí-Campus Paulistana (IFPI)
(Avaliador)

Prof. Dr. David Germano Goncalves Schwarz
Universidade Federal do Piauí-Campus Professora Cinobelina Elvas (UFPI)
(Avaliador)

Dedico esse trabalho, a meus pais amado, Maria das Candeias e Edmilson, por está sempre ao meu lado nessa jornada, me apoiando, dando força, sendo minha base em todos os momentos e maiores incentivadores.

A meus queridos pais adotivos e tios, Tânia e Inácio, que tanto me apoiam, abraçam meus sonhos como sendo seus, e acreditam mais em mim do que eu mesma.

A meu querido irmão Edmilson Breno, por ser meu exemplo de força, determinação e coragem.

A minha filhinha de quatro patas Lisse, por sempre está ao meu lado em todos os momentos, me dando forças quando necessário, esbanjando sempre alegria e cuidado.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À meus familiares, amigos, conhecidos e desconhecidos que me estiveram comigo nessa jornada, me ajudando, apoiando e incentivando.

À minha querida orientadora Dayseanny Bezerra, que além de mestre nessa jornada de grandes aprendizados, foi amiga, conselheira, incentivadora, mãe postiça em horas vagas e grande exemplo de profissional. Sua empatia, humildade, bom humor e cuidado me fizeram transformar dificuldades em oportunidades.

Ao instituto Federal do Piauí-Campus Paulistana, responsável pela minha formação profissional, e todos os profissionais que contribuíram para meu crescimento acadêmico, e tornaram os dias exaustivo e desmotivadores mais leves, com sorrisos, gentileza e empatia.

À meus amigos que a zootecnia me proporcionou (Gláucio, Francilene, Gabi e Tatiane) que foram tão incríveis comigo para eu poder realizar esse trabalho, obrigada pela ajuda, risadas, conselhos, puxões de orelha, incentivo e companhia nas madrugadas frias e de desespero, nós conseguimos. Com vocês todo perrengue foi transformado em risadas.

À meus amigos de curso que foram tão importantes nessa caminhada, cada abraço, sorriso, cuidado e carinho tornaram meus dias alegres, leves e divertidos.

À professora Hatawa e alunas da UFPI (Alexandra, Isa, Ana Luisa) que foram essenciais para a conclusão desse trabalho. Obrigada pela ajuda e carinho que tiveram comigo.

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Meu muito obrigada a todos que mesmo sem eu citar o nome, porque foram muitas pessoas, estiveram comigo nessa caminhada e foram muito importantes para eu chegar até aqui.

“ Believe in yourself “
(Autor desconhecido)

RESUMO

A doença de Johne ou paratuberculose, como é conhecida, é ocasionada por um bacilo, *Mycobacterium avium* subesp. *Paratuberculosis* (MAP), que acomete os ruminantes em geral, ocasionando enterite granulomatosa crônica. Sendo assim, objetivou-se pesquisar a ocorrência de lesões inflamatórias intestinais associadas a paratuberculose em ovinos e caprinos na região do território da Chapada do Vale do Itaim, no estado do Piauí. Para a realização da pesquisa foram coletados fragmentos do intestino delgado e grosso (íleo, válvula ileocecal e ceco), respectivamente, de 30 animais. As amostras foram processadas histologicamente e coradas com hematoxilina e eosina para a verificação de possíveis lesões, além de protocolo para coloração de bacilos ácido-álcool resistentes por técnica de Ziehl Neelsen. Na avaliação histopatológica, 12 animais foram sugestivos com lesões associadas a paratuberculose, nos quais foi possível identificar infiltrados inflamatórios com presença de macrófagos, linfócitos, monócitos e neutrófilos, além disso, granulomas e células gigantes de Langhans. Na baciloscopia, dois animais foram sugestivos para bacilo álcool-ácido resistente (BAAR). Para a análise estatística foi usado o método descritivo. Portanto, conclui-se que os animais avaliados foram sugestivos para ocorrência de paratuberculose.

Palavras-chave: bacilo ácido- álcool resistente; paratuberculose; ziehl-neelsen.

ABSTRACT

Johne's disease or paratuberculosis, as it is known, is caused by a bacillus, *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* (MAP), which affects ruminants in general, causing chronic granulomatous enteritis. Therefore, objective was to investigate the occurrence of inflammatory bowel lesions associated with paratuberculosis in sheep and goats in Chapada do Vale do Itaim region, in Piauí state. To carry out this research, small and large intestine fragments (ileum, ileocecal valve, and cecum) were collected, respectively, from 30 animals. Samples were histologically processed and stained with hematoxylin and eosin to check for possible lesions, in addition to a protocol for staining acid-alcohol resistant bacilli using Ziehl Neelsen's technique. In the histopathological evaluation, 12 animals were suggestive of lesions associated with paratuberculosis, in which it was possible to identify inflammatory infiltrates with macrophages, lymphocytes, monocytes and neutrophils presence, in addition, granulomas and Langhans giant cells. On smear microscopy, two animals were suggestive of acid-fast bacillus (AFB). Descriptive method was used for statistical analysis. Therefore, it is concluded that animals evaluated were suggestive over paratuberculosis occurrence.

Keywords: acid-alcohol resistant bacillus; paratuberculosis; ziehl-neelsen.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Fotomicrografia de fragmentos macroscópicos de Íleo, válvula ileocecal e ceco	6
Figura 2 -	Fotomicrografia de achados histopatológicos em íleo, válvula ileocecal e ceco através da coloração com hematoxilina e eosina (HE).	7
Figura 3-	Fotomicrografia de baciloscopia sugestiva para o bacilo álcool-ácido resistente (B.A.A.R).....	7

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HE	Hematoxilina e eosina
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e estatística
LSPs	<i>large sequence polymorphisms</i>
MAP	<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>Paratuberculosis</i>
NUPCELT	Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisa com Células-Tronco
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
SEBRAE	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
SSPs	<i>short sequence polymorphisms</i>
Zn	Ziehl- Neelsen

LISTA DE SIMBOLOS

% Porcentagem

® Marca registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
3 MATERIAL E MÉTODOS	4
4 RESULTADOS.....	6
5 DISCUSSÃO	8
6 CONCLUSÃO	9
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	9
REFERENCIAS.....	11

1 INTRODUÇÃO

A doença Johne ou Paratuberculose, como é conhecida, acomete diversas espécies de animais principalmente ruminantes, essa é uma enfermidade crônica progressiva, causada pelo bacilo *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* (MAP) (FOX et al., 2020; FECTEAU, 2017). É uma enfermidade que ocasiona enterite granulomatosa, oriunda da abundância de macrófagos que englobam o bacilo presente na submucosa e lâminas própria do intestino (WINDSOR, 2015).

A inflamação causada por MAP, consiste em uma resposta inflamatória proveniente da reação de células imune fagocitárias às bactérias no organismo do animal, convocando novas células inflamatórias para o local afetado, favorecendo para a geração anormal de granulomas nos segmentos mediano e distal do intestino delgado, algo bem característico da paratuberculose (COUSSENS et al., 2010; TIWARI et al., 2006).

Então, devido sua capacidade de gerar prejuízos econômicos em animais de produção e por haver indícios na literatura científica de correlação com a doença de Crohn, mesmo que seja um fator ainda não elucidado, estudos realizados até o momento inferem que a paratuberculose pode ser uma possível zoonoses e o MAP um possível agente etiológico para o desenvolvimento da doença (CARVALHO et al., 2016; WADDELL et al., 2016). Os sinais clínicos entre ambas as doenças são parecidos, o que envolve a inflamação íleo terminal, adensamento da mucosa intestinal, presença de granulomas, desaparecimento da massa corporal e diarreia (ERRANTE; JUNIOR, 2016; CUNHA; BALLUS, 2009; ACHESON, 2001; SELBY, 2000).

Comprovadamente, o bacilo causador da doença pode contaminar a carne e derivados no ante e pós morte, podendo ser transmitido através da água e leite não pasteurizado, sendo resistente ao tempo/temperatura de pasteurização, apresentando-se persistente a altas e baixas temperaturas, pH ácido, desidratação e biocida, sendo denominada como bactéria álcool-ácido resistente (B.A.A.R.) (FALKINHAM, 2018; WADDELL et al., 2016; JOHNSON; ODELL, 2014).

Desta forma, devido à ausência de estudos no estado do Piauí, especialmente o território da Chapada do Vale do Itaim, de ocorrência de paratuberculose em ovinos e caprinos, pesquisas se fazem necessárias para elucidar o acometimento desta enfermidade ou a ausência da mesma no Piauí.

Portanto, objetivou-se pesquisar a ocorrência de lesões inflamatórias intestinais associadas a paratuberculose em ovinos e caprinos na região do território da Chapada do Vale do Itaim, no estado do Piauí.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A região nordeste foi estimada com um rebanho efetivo de 11.498.124 milhões de cabeças de caprino e 14.561.928 milhões de cabeças de ovinos, resultado da adaptação de algumas raças dessas espécies, e muito se dá pelo rico bioma que é a caatinga. A região nordeste que vem se destacando cada vez mais com sua expansão ao longo dos anos em comparação a outros estados do país, onde o desenvolvimento na criação dessas espécies foi pouco significativo (IBGE, 2020; MAGALHÃES et al., 2020).

Em se tratando do território da Chapada do Vale do Itaim, esse faz parte da microrregião do Alto Médio Canindé que segundo o diagnóstico realizado pelo Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE), seria a microrregião com maior rebanho caprino e ovino do estado do Piauí (SEBRAE, 2002). No último censo realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o rebanho totalizava 475.616 caprinos e 718.428 ovinos (IBGE, 2020).

A produção de caprinos e ovinos favorece para o desenvolvimento econômico, uma vez que há oferta de produtos e derivados com grande procura de mercado, baixo investimento de capital inicial, haja vista que o sistema de criação mais adotado é o extensivo, sendo esse, com predominância de ausência de manejo alimentar, e sem nenhum capital investido, a base alimentar dos animais é a pastagem natural da caatinga, além disso contribui para angariar renda em pequena proporção (CORDÃO et al., 2014; JÚNIOR; MARTINS, 2007; COSTA, 2008). Estudos mostram que muitas propriedades desistem da criação de ovinos e caprinos por problemas com a sanidade do rebanho, principalmente quando adotado criação em sistema extensivo (HELMER, 2020).

Com isso, a ocorrência de doenças consideradas como zoonoses apresenta grande importância para a saúde pública, uma vez que o abate clandestino e o consumo de leite sem pasteurização na região do Vale do Itaim ainda são fatos com grande ocorrência. Desta forma, a notificação de doenças que podem afetar tanto a produtividade de ovinos e caprinos como a saúde da população consumidora, ganha destaque pela necessidade de coleta de dados das mesmas. Sendo assim, a

paratuberculose ganha relevância, uma vez que acomete os ruminantes em geral, ocasionando inflamação no intestino dos animais acometidos (BENNETT et al., 2012).

No nordeste já foi notificado a presença de animais com a paratuberculose, e derivados contaminados com o MAP, sendo os estados de Pernambuco em bovinos leiteiros (SÁ et al., 2013), búfalas leiteiras (MOTA et al., 2010) e queijo coalho (Albuquerque et al., 2019), na Paraíba em pequenos ruminantes (VILAR et al., 2015) e bovinos leiteiros (MEDEIROS et al., 2012; MOTA et al., 2009), no Maranhão em búfalos (ROCHA et al., 2017; REIS, 2016), e no Piauí em queijo coalho artesanal (CASTRO et al., 2016).

O *Mycobacterium avium* subesp. *Paratuberculosis* apresenta resistência à destruição pelos macrófagos por meio da inibição da conversão de fagossomos a fagolisossomos, devido a isso, fatores de constância e virulência ainda não estão totalmente interpretados (COUSSENS et al., 2010; JUBB et al., 2007). Ainda não se tem total conhecimento sobre a patofisiologia do MAP, uma vez que ainda não há uma elucidação do que o bacilo desencadeia de fato no organismo dos animais afetados, e principalmente pela ausência de padronização de uma espécie animal para aplicação dos experimentos (SCHWARZ, 2012).

Os sinais clínicos da paratuberculose em pequenos ruminantes são menos expressivos que em bovinos, uma vez que não apresentam diarreia, contudo, a perda de peso, apatia e caquexia é bem aparente, levando o animal a morte. Por ser uma doença incurável até o presente momento, meios de prevenção de diagnósticos devem ser feitos para controle da doença (SÁNCHEZ; ZÚÑIGA, 2020). Testes como o ELIZA, imunoistoquímica, *polymerase chain reaction* (PCR), imunodifusão em gel de ágar, teste de tuberculina intradérmico e γ -IFN, coloração com Ziehl-Neelsen, são bastantes utilizados e o escolhido deverá levar em conta os custos, eficiência, precisão, e a fase de desenvolvimento da doença (WHITTINGTON et al., 2019; YAMASAKI et al., 2013).

Diversas causas podem explicar a transmissão do bacilo no rebanho, isso inclui tamanho do rebanho, acesso de filhotes a fezes de animais contaminados, pastagens e água contaminada com fezes, sendo assim, promover a separação dos filhotes após o nascimento, adotar a vacinação, descartar animais positivados, utilizar de testes de diagnósticos e adotar banco de colostro de qualidade são meios de controle que podem ser instaurados para evitar a transmissão da micobactéria no rebanho (SÁ et al., 2013; SÁNCHEZ; ZÚÑIGA, 2020). A paratuberculose acarreta em grandes perdas

econômicas aos produtores, ocasionando baixa produção de leite, descarte prematuro, custo com auxílio veterinário, além de interferir na saúde pública e bem estar dos animais (CASAIS et al., 2021; WHITTINGTON et al., 2019; WINDSOR, 2014, 2015; YAMASAK et al., 2010).

Outro fator importante para a população consumidora consiste no fato que a Organização Mundial da Saúde Animal (OIE) desde 2012, enfatiza que a paratuberculose, se apresenta como sendo de caráter transmissível de importância socioeconômica e/ou saúde pública, no qual deve haver controle com a venda internacional de animais e com o consumo de alimentos de origem animal. Entretanto, a OIE também declarou que a paratuberculose ainda não é apontada como uma zoonoses, mas, pesquisas apontam que a enfermidade tem possibilidade de ser transmissível para o ser humano, e que há uma possível ligação com a doença de Crohn, já que o MAP foi encontrada no sangue de pessoas portadoras dessa doença (CHIODINI et al., 2012; OIE, 2012; NASER et al., 2004;).

A doença de Crohn, é uma enfermidade que afeta os humanos, sendo altamente debilitante e que gera sequelas, além de ser fatal em muitos casos, uma vez que ocasiona enterite na porção do colón, e os sintomas são diversos, entre eles a náusea, diarreia, febre e dores abdominais, ainda não há elucidação do que ocasiona o desenvolvimento da enfermidade (PAPACOSTA et al., 2017).

Para o diagnóstico da paratuberculose e detecção do MAP em ruminantes pode ser utilizado diversos testes existentes no mercado, um deles é o método de Ziehl-Neelsen (ZN) que posse ser utilizado para a identificação rápida do bacilo tanto em fezes quanto em tecido, e a avaliação histopatológica que apresenta boa eficiência, e pode ser tranquilamente substituído pelo sorológico e outros testes convencionais (SIKANDAR et al., 2013; COELHO et al., 2008). Uma vez que o bacilo álcool-ácido resistente (B.A.A.R) é o agente etiológico da Paratuberculose, e por possuir em sua parede celular ácidos micólicos, permite que a técnica de Ziehl-Neelsen seja utilizada para detecção da doença nos animais contaminados (MANRIQUE et al., 2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Instituto Federal de Educação, Ciência e tecnologia do Piauí-Campus Paulistana, em parceria com o laboratório de Análises morfológicas do NUPCELT na Universidade Federal do Piauí, aprovado pelo Comitê

de Ética e Uso Animal CEUA/IFPI, com o N° 004/CEUAIFPI/2021. Os trabalhos iniciaram-se em abril e encerrou em junho de 2022.

Foram coletadas porções do intestino delgado e grosso (íleo, válvula ileocecal e ceco) de 30 animais, em triplicata, sendo dois caprinos e vinte e oito ovinos. No momento da coleta todos os fragmentos coletados foram submersos em formol aldeído tamponado a 10% para que ocorresse a preservação e fixação do tecido, após 24 horas todas as amostradas foram transferidas do formol para o álcool 70, onde ocorreu a desidratação e preservação do material, os fragmentos ficaram no álcool 70 por um período de dois meses, onde se deu início a etapa de processo histológico. Os animais ao qual foi cedido as amostras pertenceram a rebanhos das cidades de Acauã, Patos-PI e Paulistana, todos as coletas foram realizadas nas propriedades, com exceção ao rebanho do município de Paulistana, onde foi realizada no abatedouro municipal, sendo as três cidades pertencentes ao território da chapada do vale do Itaim no estado do Piauí, Brasil.

A análise macroscópica foi feita em três animais, todos ovinos, para verificação da mucosa e identificação de possíveis aparecimento de sinais clínicos associados a paratuberculose.

O processamento histológico foi realizado no Laboratório de Ciências Agrárias do Instituto Federal do Piauí Campus-Paulistana, os fragmentos foram fixados em formaldeído tamponando a 10% por um período de 24 horas e desidratados em sequência de álcoois 70, 80, 90 e 100%, diafanizados em xilol, infiltrado com parafina a 60°C e inclusos com parafina histológica, seguindo o método descrito (CAPUTO et al., 2010). No laboratório de Análises morfológicas do NUPCELT na Universidade Federal do Piauí, os blocos foram cortados em micrótomo (Leica®) em espessura de 7 µm, os cortes foram colocados em banho-maria histológico (OMA®) e pescados por meio de lâminas de vidro com ponta fosca para montagem e leitura histopatológica.

A análise de ocorrência de MAP foi realizada pelo método Ziehl-Neelsen obedecendo as indicações do fabricante (LABORCLIN), exceto o processamento de aquecimento da fucsina que foi adaptado, onde foi utilizado a estufa em temperatura de 56° para que ocorresse o aquecimento sem que a solução não viesse a ferver, e os tecidos pescados foram submersos na coloração e esperado um tempo de 7 minutos para a devida coloração e posterior foi dado continuidade ao processo, sendo lavadas com água corrente para a retirada do excesso do corante e adicionado o descorante álcool-ácido, em seguida, foram lavadas novamente e coradas com azul

de metileno por um minuto, secas em papel toalha, e coladas com lamínula de vidro para em seguida serem examinadas em objetiva de 100x com óleo de imersão.

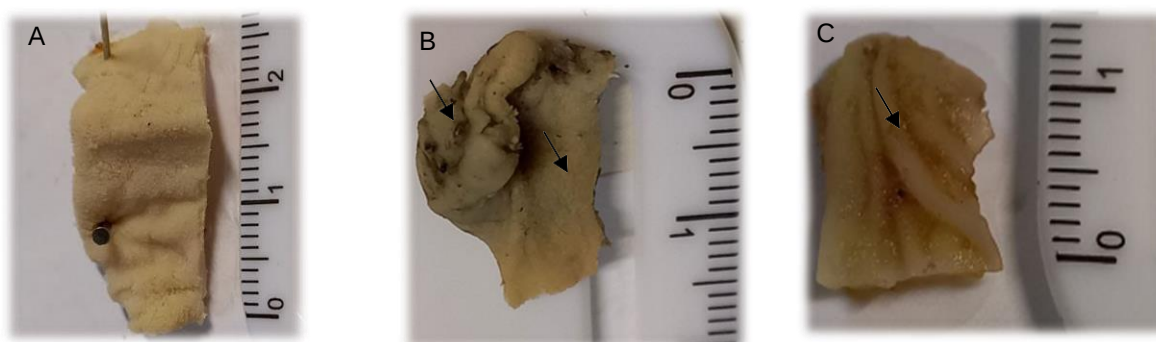
Para a avaliação histopatológica, foi utilizado coloração por hematoxilina e eosina para verificação de lesões inflamatórias características da paratuberculose na mucosa do íleo, válvula ileocecal e ceco. Para a descrição estatística foi utilizada análise descritiva.

4 RESULTADOS

A análise macroscópica realizada demonstrou que três animais foram positivos para lesões associadas a paratuberculose, foi possível identificar que a mucosa dos fragmentos de íleo, e ceco de dois animais apresentavam-se levemente densas e enrugadas, já a válvula ileocecal, apresentou-se com partes lisas e outra extremamente densa e enrugada com aparecimento de um possível cisto (Figura 1).

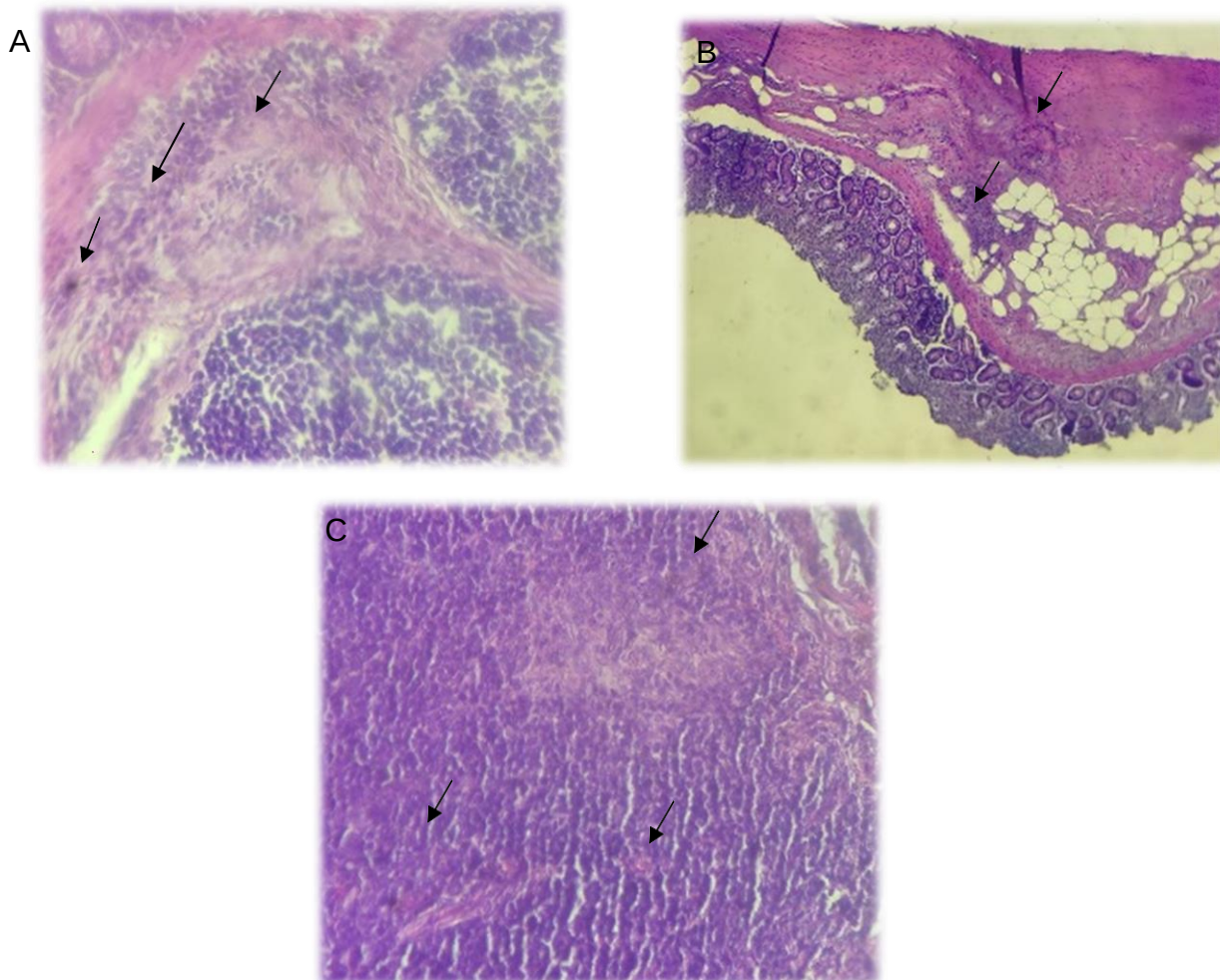
Dos 30 animais que foram coletadas as porções do intestino delgado e grosso, 12 desses foram sugestivos para a paratuberculose, sendo todos em ovinos, com aparecimento de lesões inflamatórias na porção íleo terminal (50%), ceco (41,66%) e válvula ileocecal (8,33%), no qual foi possível identificar pontos de inflamações com grande quantidade de células de defesa, células gigantes de Langhans, e granulomas, sinais característicos da doença (figura 2).

Figura 1 – Análise macroscópica de intestino de ovinos e caprinos. (A) Mucosa de íleo de ovino, apresentando aspecto enrugado e denso. (B) mucosa de válvula ileocecal apresenta-se parcialmente lisa e com porção densa e enrugada. (C) Mucosa de ceco de ovino, apresentando-se enrugada e densa.



Fonte: Arquivo Pessoal

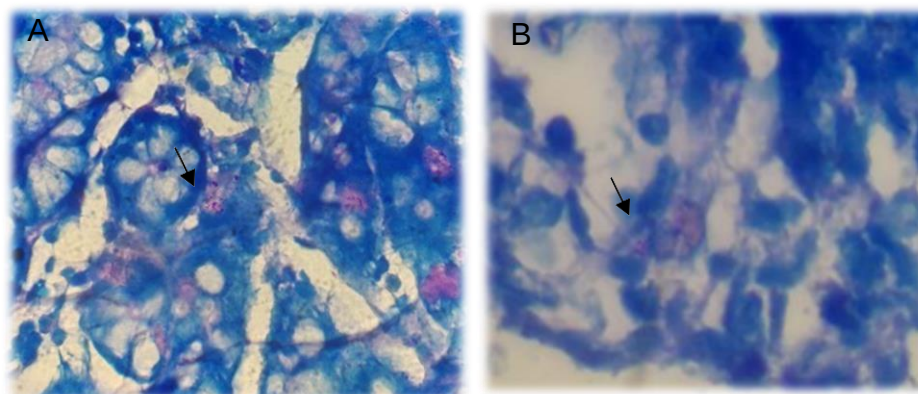
Figura 2 – (A) Fotomicrografia de submucosa de íleo de ovino, apresentando enterite granulomatosa, células gigantes de Langhans e granuloma. HE. Obj 40X. (B) Fotomicrografia, indicando célula gigante de Langhans e enterite granulomatosa na musculatura externa de ceco de ovino. HE. Obj 40x. (C) Fotomicrografia, mostrando célula gigante de Langhans, granulomas, e enterite granulomatosa em vilosidade de válvula ileocecal de ovino. HE. Obj. 100x.



Fonte: Arquivo pessoal

A presença do bacilo *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* foi sugestivo em dois animais, ambos da espécie ovina, sendo encontrado nos segmentos da mucosa do íleo e ceco de animais diferentes (FIG 3). Apenas uma das sugestivas do MAP e a confirmação da enterite granulomatosa foi encontrada no mesmo animal, sendo esse no fragmento do ceco (figura 2.C).

Figura 3 – (A) Fotomicrografia da lâmina própria do íleo, sugestiva para numerosos bacilos álcool-ácido resistente. Ziehl-Neelsen, obj. 100x. (B) Fotomicrografia da mucosa de ceco, sugestivo para presença de B.A.A.R. Ziehl-Neelsen, obj. 100x.



Fonte: Arquivo pessoal

5 DISCUSSÃO

Os resultados histopatológicos identificaram 12 animais com presença de lesões associadas a paratuberculose e pela Técnica de ZN é sugestivo a presença do MAP em dois animais, uma vez que, os achados macroscópicos e histológicos são bem característicos aos que estão associados a Paratuberculose. As lesões associadas a paratuberculose podem ser ou não vistas macroscopicamente, no caso desse estudo é possível perceber os dois aspectos, o mesmo sendo relatado por Freitas (2014) em bovinos.

Nos achados histopatológicos, a porção mais afetada foi do íleo terminal. Coelho et al. (2007) relata que é comum ser encontrado lesões com predomínio em íleo e válvula ileocecal, ressaltando o desenvolvimento de rugas e o adensamento da mucosa. Fecteau (2017) também confirma em sua pesquisa que a principal porta de entrada para o bacilo causador da paratuberculose é o intestino delgado, em particular o jejuno e íleo. Segundo Garvey (2020), isso ocorre devido a células Microfold (M) presentes nas placas de Peyer, que se torna porta de entrada para o MAP, uma vez dentro do íleo a parede celular da bactéria produz a proteína de fixação de fibronectina (FAP) que a faz se ligar as células M, essa leva o antígeno até as células dendríticas e macrófagos, fazendo assim com que o bacilo as colonize e prolongue sua permanência intracelular, desencadeando respostas inflamatórias.

Sendo assim, pode ser explicado o fato do intestino grosso ser menos afetada, conforme os achados na presente pesquisa, e a porcentagem de ceco ser menor que a do íleo, uma vez que não há presença de placas de Peyer. Mota et al. (2010)

também identificou em búfalos no semiárido pernambucano menores quantidades lesões associadas a paratuberculose nessa porção do intestino grosso.

A detecção de BAAR por meio da baciloscopia demonstrou baixa acurácia em relação aos achados histopatológicos. Fato este, também relatado por Yamasaki et al. (2013) em bovinos, onde foi detectado lesões granulomatosas em intestino delgado, contudo não foi constatado a presença da bactéria álcool-ácido resistente pelo método de Ziehl-Neelsen. Justiniano (2012) também relatou que através da coloração de Ziehl-Neelsen não foi visualizado a micobactéria em válvula ileocecal em pequenos ruminantes. Sendo concluído por Véliz e Falcones (2021) que a técnica de ZN apresenta baixa sensibilidade em comparação a histopatologia, uma vez que o resultado do seu estudo foi de apenas um animal positivo para ZN de três confirmados pela técnica histopatológica.

Animais que estiveram presentes no mesmo rebanho daqueles sugestivos, e não apresentaram o bacilo, poderiam estar na fase subclínica da doença, o que faz com que o método de Ziehl-Neelsen não seja tão eficaz, semelhante ao confirmado por Justiniano (2012) em pequenos ruminantes, onde identificou o Map através de PCR nos mesmos tecidos submetidos a ZN negativo.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que dos 30 animais avaliados 12 foram sugestivos para lesões histopatológicas associadas à da paratuberculose e apenas 2 pela baciloscopia. Sendo assim, devem ser submetidos a outras técnicas mais sensíveis que venham a confirmar o MAP na região da Chapada do Vale do Itaim, uma vez que, a adoção da baciloscopia por meio de coloração de Ziehl-Neelsen tem como característica apresentar baixa sensibilidade em casos subclínicos da doença. Com isso, é indicado o teste de PCR para a confirmação do bacilo, pois apresenta alta sensibilidade e especificidade.

REFERÊNCIAS

- ACHESON, D. W. K. An alternative perspective on the role of *Mycobacterium paratuberculosis* in the etiology of Crohn's disease. **Food Control**, Amsterdam, v. 12, n. 6, p. 335-338, 2001.
- ALBUQUERQUE, P. P. F et al. Ocorrência de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em queijo coalho do Estado de Pernambuco, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 6, p. 1917-1921, 2019.
- BENNETT, R et al. Modelling of Johne's disease control options in beef cattle: A decision support approach. **Livestock Science**, v. 146, n. 2-3, p. 149-159, 2012.
- BRAGA, I. F. E. *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*: **identificação em água e fatores de risco relacionados à presença em biópsias intestinais**. 2015.
- CAPUTO, L. F. G; GITIRANA, L. B.; MANSO, P. P. A. **Técnicas histológicas**. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio, p. 89-188, 2010.
- CARVALHO, I. A et al. Presença de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) em pacientes brasileiros com doença inflamatória intestinal e em controles. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 134, n. 1, p. 13-19, 2016.
- CASAI, R et al. Control de la paratuberculosis bovina: **identificación y validación de biomarcadores de detección precoz de la enfermedad**. 2021.
- CASTRO, KN de C et al. *Mycobacterium Bovis* em queijo coalho artesanal em Parnaíba, Piauí. in: **I CONGRESSO INTERNACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA E V CONGRESSO PIAUIENSE DE SAÚDE PÚBLICA. V SEMINÁRIO DE ENSINO NA SAÚDE**, 1, SANARE, 2016. Parnaíba. Anais [...]. Parnaíba, 2016.
- CHIODINI, R. J et al. Crohn's disease and the mycobacterioses: a quarter century later. Causation or simple association. **Critical reviews in microbiology**, v. 38, n. 1, p. 52-93, 2012.
- CLARK, R. G et al. Johne's disease caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in red deer (*Cervus elaphus*): an histopathological grading system, and comparison of paucibacillary and multibacillary disease. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 58, n. 2, p. 90-97, 2010.
- CLARK, R. G et al. Modification to histopathological lesion severity score in red deer (*Cervus elaphus*) affected by Johne's disease. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 59, n. 5, p. 261-262, 2011.
- COELHO, A. C et al. Diagnóstico de paratuberculose ovina Diagnosis of paratuberculosis in sheep. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 2, p. 305-313, 2007.

- 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, p. 1097-1102, 2008.
- CORDÃO, M. A et al. Efeito da suplementação com Blocos Multinutricionais sobre o desempenho e características de carcaça de ovinos e caprinos na Caatinga. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, p. 1762-1770, 2014.
- COSTA, R. G et al. Caracterização do sistema de produção caprino e ovino na região semi-árida do estado da Paraíba. Brasil. **Archivos de zootecnia**, v. 57, n. 218, p. 195-205, 2008.
- COUSSENS, P et al. Host-pathogen interactions and intracellular survival of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis. **Paratuberculosis: organism, disease, control, CABI, Oxfordshire, UK**, p. 109-125, 2010.
- CUNHA, M. F; BALLUS, C. A. Mycobacterium avium subesp. paratuberculosis: uma preocupação para a indústria de laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 366, p. 3-11, 2009.
- ERRANTE, P. R; JÚNIOR, S. C. R. Doença de crohn, diagnóstico e tratamento. **Atas de Ciências da Saúde (ISSN 2448-3753)**, v. 4, n. 4, p. 31-50, 2016.
- FALKINHAM, J. O. Mycobacterium avium complex: Adherence as a way of life. **AIMS microbiology**, v. 4, n. 3, p. 428, 2018.
- FECTEAU, M-E. Paratuberculosis in cattle. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 34, n. 1, p. 209-222, 2018.
- FREITAS, T. D. **Paratuberculose em ruminantes na Região do Semiárido Paraibano-Brasil**. 2014. Trabalho de conclusão de curso (graduação). Universidade Federal de Campina Grande- centro de saúde e tecnologia rural unidade acadêmica de medicina veterinária programa de pós-graduação em medicina veterinária. 2014.
- FOX, N. J et al. 15 Infection of Non-Ruminant Wildlife by Mycobacterium avium. **Paratuberculosis: Organism, Disease, Control**, p. 200, 2020.
- GARVEY, M. Mycobacterium avium paratuberculosis: a disease burden on the dairy industry. **Animals**, v. 10, n. 10, p. 1773, 2020.
- HELMER, J. F et al. Caracterização dos sistemas de produção de ovinos e caprinos na microrregião de Castanhal, Pará. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 14, n. 3, p. 202-209, 2020.
- HOLANDA JÚNIOR, E. V.; MARTINS, E. C. Análise da produção e do mercado de produtos caprinos e ovinos: o caso do território do sertão do Pajeú em Pernambuco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO, 7., 2007, Fortaleza. **Anais eletrônicos [...]**. Fortaleza, 2007.
- IBGE. Pesquisa da Pecuária Municipal. Tabela 3939: efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho. [Rio de Janeiro, 2021]. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>. Acesso em: 03 abr. 2022.

JOHNSON, M. M; ODELL, J. A. Nontuberculous mycobacterial pulmonary infections. **Journal of thoracic disease**, v. 6, n. 3, p. 210, 2014.

JUBB, K. V. F et al. **Pathology of domestic animals**. 4 th. Academic Press, Inc. London, 2007.

JUSTINIANO, S. V et al. **Pesquisa de Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis em caprinos e ovinos provenientes de matadouro na Paraíba**. 2012. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Campina Grande, 2012

KRUZE, J et al. Goat paratuberculosis in Chile: first isolation and confirmation of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis infection in a dairy goat. **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 18, n. 5, p. 476-479, 2006.

KURADE, N. P et al. Sequential development of histologic lesions and their relationship with bacterial isolation, fecal shedding, and immune responses during progressive stages of experimental infection of lambs with Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis. **Veterinary Pathology**, v. 41, n. 4, p. 378-387, 2004.

MAGALHAES, K. A et al. Caprinos e ovinos no Brasil: **análise da Produção da Pecuária Municipal 2019**. Sobral. v. 1, n. 11, 2020. dez, 2020.

MANRIQUE, W. G et al. Mixosporidiose em Piaractus mesopotamicus de criação intensiva: diagnóstico histopatológico pela coloração Ziehl-Neelsen. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 11, p. 1133-1137, 2012.

MC GAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Pathologic bases of veterinary disease**. 4 th. Missouri. MOSBY, 2007

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

MOMOTANI, E et al. Role of M cells and macrophages in the entrance of Mycobacterium paratuberculosis into domes of ileal Peyer's patches in calves. **Veterinary pathology**, v. 25, n. 2, p. 131-137, 1988.

MOTA, P. M. P. C et al. Paratuberculose em um rebanho Gir leiteiro no Estado da Paraíba Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, p. 703-706, 2009.

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

NASER, S. A et al. Culture of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis from the blood of patients with Crohn's disease. **The Lancet**, v. 364, n. 9439, p. 1039-1044, 2004.

OIE 2012. World Organization for Animal Health. Disponível em <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.11_PARATB.pdf> Acessado em 04 abr. 2022.

OLIVEIRA, D. M et al. Paratuberculose em caprinos e ovinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 67-72, 2010.

- PAPACOSTA, N. G et al. Doença de crohn. **Revista de patologia do Tocantins**, v. 4, n. 2, p. 25-35, 2017.
- REIS, A. S. B et al. **Estudo da paratuberculose em búfalos (*Bubalus bubalis*) no estado do Maranhão**. 2016. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Pará. 2016.
- ROBBE-AUSTERMAN, S. Control of paratuberculosis in small ruminants. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 27, n. 3, p. 609-620, 2011.
- ROCHA, T. B et al. Identificação de *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* (map) através da bacterioscopia em búfalos abatidos na Baixada Maranhense. **Ciência Animal**, v. 15, n. 2, p. 643-644, 2017.
- RONQUILLO VELIZ, J. C; VÉLEZ FALCONES, X. C. **Determinación de la prevalencia de paratuberculosis en bovinos de descarte mediante tinción de ziehl neelsen e histopatología en el camal del cantón Nobol**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação). Universidad de Guayaquil-Facultad de Medicina Veterinaria e Zootecnia. 2021.
- ROUSSEL, A. J et al. Association of fecal shedding of mycobacteria with high ELISA-determined seroprevalence for paratuberculosis in beef herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 230, n. 6, p. 890-895, 2007.
- SÁ, L. M et al. Avaliação sorológica e de fatores de risco para a infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em rebanhos leiteiros da Microrregião de Garanhuns, Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 310-314, 2013.
- SCHWARZ, D. G. G. **Distribuição de *Mycobacterium avium* subespécie *paratuberculosis* em órgãos de camundongos C57BL/6 experimentalmente infectados**. 2012. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Viçosa. 2012.
- SEBRAE/PI. **Diagnóstico da Cadeia Produtiva da Ovinocaprinocultura Piauiense**. Teresina: SEBRAE/PI, 2002. 116 p.
- SELBY, W. Pathogenesis and therapeutic aspects of Crohn's disease. **Veterinary microbiology**, v. 77, n. 3-4, p. 505-511, 2000.
- SIKANDAR, A et al. Ovine paratuberculosis-A histopathological study from Pakistan. **J. Anim. Plant Sci**, v. 23, n. 3, p. 749-753, 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.
- TIWARI, A et al. Johne's disease in Canada: Part I: Clinical symptoms, pathophysiology, diagnosis, and prevalence in dairy herds. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 47, n. 9, p. 874, 2006.
- VILAR, A. L.T et al. Herd-level prevalence and associated risk factors for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in cattle in the State of Paraíba, Northeastern Brazil. **Preventive veterinary medicine**, v. 121, n. 1-2, p. 49-55, 2015.

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**, v. 132, p. 32-48, 2016.

WHITTINGTON, R 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.

WINDSOR, P. A. Managing control programs for ovine caseous lymphadenitis and paratuberculosis in Australia, and the need for persistent vaccination. **Veterinary Medicine: Research and Reports**, v. 5, p. 11, 2014.

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

WU, C-W et al. Invasion and persistence of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis during early stages of Johne's disease in calves. **Infection and immunity**, v. 75, n. 5, p. 2110-2119, 2007.

YAMASAKI, E. M et al. Diagnóstico imuno-histopatológico da paratuberculose subclínica em bovinos no estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 1427-1432, 2013.

YAMASAKI, E. M et al. Paratuberculose em ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 127-140, 2013.

YAMASAKI, E. M et al. Aspectos clínico-patológicos e controle da paratuberculose em rebanho bovino leiteiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 921-932, 2010.

ZIMMER, K et al. Contribution to the Diagnosis of Johne's Disease in Cattle. Comparative Studies on the Validity of Ziehl-Neelsen Staining, Faecal Culture and a Commercially Available DNA-Probe® Testb in Detecting Mycobacterium paratuberculosis in Faeces from Cattle. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, v. 46, n. 2, p. 137-140, 1999.

ZÚÑIGA, L. B; SÁNCHEZ, A. G. Estudio de la paratuberculosis en ganado caprino de raza verata en Extremadura. **Badajoz Veterinaria**, n. 25, p. 6-13, 2022.