

Doença de Johne: uma doença emergente em rebanhos leiteiros brasileiros

Johne's Disease: an emerging disease in Brazilian dairy herds

* Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Departamento de Nutrição e Produção Animal
Universidade de São Paulo.
Av. Duque de Caixas Norte, 225
CEP: 13630-000 - Pirassununga - SP
e-mail: ilfonseca@usp.br

* Luis Fernando Laranja-da-Fonseca¹ - CRMV-SP nº 6511

Alexandre Azevedo Olival²

Christian Campos Pereira³ - CRMV-SP nº 10738

Marcos Veiga dos Santos⁴ - CRMV-SP nº 9252

¹ Professor Doutor - FMVZ - USP.

² Acadêmico de Medicina Veterinária - FMVZ - USP.

³ Médico Veterinário - FMVZ - USP.

⁴ Doutorando em Ciências dos Alimentos - FCF - USP.

RESUMO

A Paratuberculose ou Doença de Johne é uma doença infecto-contagiosa, causada pelo *Mycobacterium paratuberculosis*, que se caracteriza por um processo inflamatório granulomatoso no intestino dos ruminantes domésticos e selvagens, determinando redução na digestibilidade dos alimentos, com conseqüente queda na produção de leite. Os animais infectados geralmente apresentam diarreia progressiva e perda de peso. Ainda que a literatura nacional apresente descrições da ocorrência de paratuberculose como casos isolados, não existem dados sobre a ocorrência da paratuberculose em rebanhos leiteiros no Brasil. Em estudo recente que avaliou a presença de anticorpos anti-*M. paratuberculosis* em rebanhos leiteiros do Estado de São Paulo, LARANJA-DA-FONSECA *et al.* (1999) identificaram que dos 403 animais amostrados, 153 (37,9%) apresentaram anticorpos anti-*Mycobacterium paratuberculosis* e, das 20 fazendas amostradas, 19 (95%) tiveram pelo menos um animal positivo, existindo assim a necessidade de levantamentos epidemiológicos da doença, a fim de que se possa avaliar o real impacto da paratuberculose nos rebanhos brasileiros.

Palavras-chave: bovino, leite, paratuberculose, *Mycobacterium paratuberculosis*, ELISA.

Em 1826, D'Aroval observou um tipo de enterite que acometia o gado bovino, caracterizada por diarreia crônica. Em 1894, um fazendeiro alemão comprou uma vaca que produzia pouco leite e estava perdendo peso, o que levou o proprietário a chamar o veterinário local, de nome Frederick Harmes, que acabou suspeitando, inicialmente de tuberculose intestinal, apesar de o animal não reagir à tuberculina. A vaca mor-

reu alguns meses depois e o Dr. Harmes enviou os intestinos, estômago e omento para o Departamento de Patologia Veterinária em Dresden. Estes materiais foram examinados pelo Dr. Johne e Dr. Frothingham que descreveram as lesões macroscópicas e microscópicas, concluindo que a doença era causada por uma bactéria que causava tuberculose em pássaros (*Mycobacterium avium*) e em virtude da similaridade com a tuberculose

intestinal, propuseram o nome de enterite pseudotuberculosa. De acordo com Twort e Ingram em 1912, a paratuberculose foi reportada na Dinamarca, Alemanha, França, Noruega, Holanda, Bélgica, Suíça e Estados Unidos entre os anos de 1902 e 1908.

Etiologia

A paratuberculose é causada pelo *Mycobacterium paratuberculosis*, que é um bacilo álcool-ácido resistente, pequeno (0.5 x 1.5 microns), de crescimento lento e aeróbio facultativo (SMITH, 1969) (Figura 1). A principal característica que a distingue de outras micobactérias é a sua dependência de micobactina exógena para o seu crescimento *in vitro* (MERKAL e CURRAN, 1974; MERKAL *et al.*, 1981). Os organismos característicos produzem colônias pequenas (1-5 mm), firmes, brilhantes, úmidas, brancas e ligeiramente lisas no meio artificial.

O *Mycobacterium paratuberculosis* pode sobreviver por longos períodos fora do animal, cerca de 163 dias na água de rios, 270 dias em água parada, 11 meses nas fezes bovinas e somente 7 dias na urina (LOVELL *et al.*, 1944; LARSEN *et al.*, 1956). As fezes e a urina parecem ter, respectivamente, uma ação bacteriostática e bactericida, sugerindo que a mistura das mesmas pode armazenar o microorganismo por períodos mais prolongados (LARSEN *et al.*, 1956). A formalina (5%), desinfetantes cresílicos (diluição de 1:32), fenol (diluição de 1:40), bicloreto de mercúrio (diluição de 1:1000) e hipoclorito de cálcio (diluição de 1:50) são efetivos contra este bacilo após 10 minutos de exposição a estes compostos na ausência de material fecal (VARDAMAN, 1954). A resistência desta bactéria ao processo de pasteurização é controversa e será discutida posteriormente.

Susceptibilidade e resistência

A paratuberculose pode acometer bovinos, ovinos, caprinos e alguns animais silvestres (NAKAMATSU *et al.*, 1968; THOEN *et al.*, 1977; BUERGELT *et al.*, 1978; CHIODINI e VAN KRUININGEN, 1983). Há também alguns registros deste agente infectando suínos, eqüinos e primatas não-humanos.

Exceto em algumas circunstâncias especiais, a grande maioria dos animais infectam-se nos primeiros meses de vida, pois há um aumento de resistência contra

(Fonte: www.vetmed.wisc.edu/pubs/johnes/index.html).

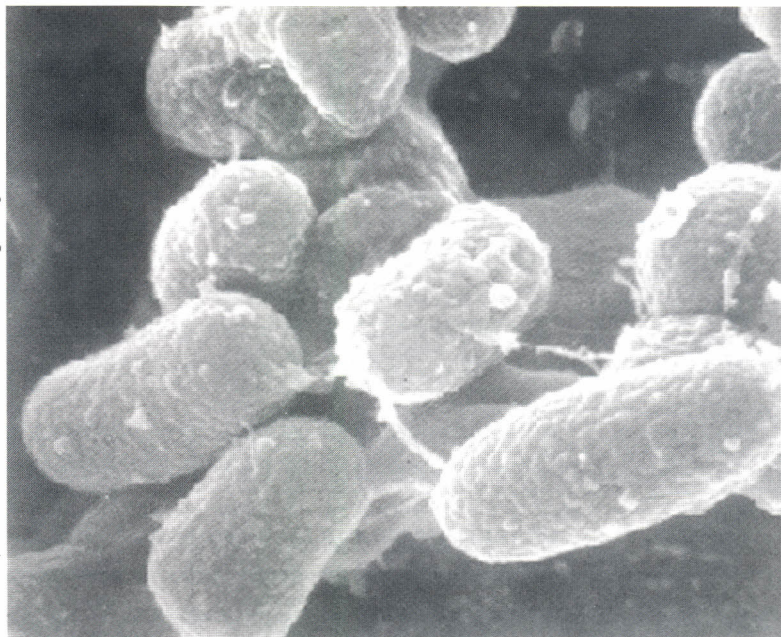


Figura 1. Eletromicrografia do *M. paratuberculosis*

o bacilo com o passar do tempo; entretanto, tal resistência nunca é completa. Se inocularmos uma grande dose de *Mycobacterium paratuberculosis* num animal adulto, provavelmente ele será infectado, mas sob condições naturais, a exposição a grandes doses do agente raramente ocorrem. Animais com menos de 30 dias são os mais susceptíveis e há várias evidências sugerindo que os bovinos se infectam quando ainda são bezerras (DOYLE, 1953; RANKIN, 1961; RANKIN, 1961a; LARSEN *et al.*, 1975). Estima-se que somente 1/3 dos bezerras expostos ao bacilo tornam-se cronicamente infectados, o que dependerá do número de bactérias ingeridas e do grau de imunidade do animal susceptível. Não foi determinado o número de bacilos necessários para promover a doença crônica; contudo, a morbidade sugere que a ingestão de poucos microorganismos é suficiente para causar uma infecção (CHIODINI *et al.*, 1984). Animais que se infectam na idade adulta podem desenvolver lesões menos pronunciadas e mesmo animais inoculados experimentalmente podem se recuperar da infecção (LARSEN *et al.*, 1975). Alguns animais expostos ao *Mycobacterium paratuberculosis* nunca desenvolverão a doença clínica, mas tornar-se-ão portadores assintomáticos (CHIODINI *et al.*, 1984).

Segundo WITHERS (1959) e JULIAN (1975), as raças Channel Island e Shorthorn apresentam alta incidência de paratuberculose; entretanto, CHIODINI *et al.* (1984) explicaram que a frequência da doença numa determinada raça é proporcional ao número de animais daquela raça na região onde o levantamento da doença foi realizado. Desta maneira, nos Estados Unidos, a raça

Quadro 1 - Fases da paratuberculose, segundo WHITLOCK e BUERGELT (1996).

FASE	CARACTERÍSTICAS
Fase 1	forma subclínica, comumente encontrada em bezerras e novilhas. Os testes diagnósticos não são capazes de detectar a doença nestes animais.
Fase 2	animais acometidos na forma subclínica, entretanto capazes de disseminar o agente por meio das fezes. Ocorre principalmente em novilhas mais velhas e primíparas. Os resultados dos testes diagnósticos são geralmente inconsistentes, dependendo do número de bactérias disseminadas.
Fase 3	forma clínica incluindo diarreia, perda de peso e diminuição na produção de leite. Os testes diagnósticos são bem confiáveis para esta fase;
Fase 4	animal doente em fase terminal.

Holandesa será mais acometida do que outras raças e, portanto, não há real diferença de susceptibilidade ou resistência, mas diferentes graus de disseminação do problema em determinadas raças.

Transmissão e modo de infecção

O *Mycobacterium paratuberculosis* é um parasita obrigatório, ou seja, o único lugar onde ele é capaz de crescer e se multiplicar é dentro de um animal e, mais especificamente, dentro de um macrófago. Assim, quando este agente é eliminado para o ambiente, ele pode sobreviver por um longo período, mas somente se multiplicará no interior do hospedeiro. Portanto, a principal fonte de infecção são os animais infectados (SWEENEY, 1996).

A ingestão de água e alimentos contendo fezes contaminadas com o bacilo é o principal modo pelo qual os animais se infectam, ocorrendo mais comumente durante o período lactente, quando o bezerro entra em contato com os tetos da mãe, sujos com fezes (JULIAN, 1975). O leite também pode ser uma via de transmissão, já que aproximadamente 35% dos animais clinicamente afetados excretam *Mycobacterium paratuberculosis* e de 3 a 19% dos animais assintomáticos podem eliminar o agente no leite (SWEENEY *et al.*, 1998). STREETER *et al.* (1995) mostraram que 9 a 36% dos animais assintomáticos excretam a micobactéria no colostro. Certamente, a contaminação do leite com fezes contribui muito mais do que a excreção do agente pelo leite nos casos de transmissão e infecção (DOYLE, 1954; JULIAN, 1975).

Uma vez ingerido, o bacilo penetra imediatamente na superfície mucosa do trato gastrointestinal, sendo posteriormente fagocitado por macrófagos. Dentro des-

tes últimos, a micobactéria permanece viável por longo período e protegida contra a resposta humoral do animal. As placas de Peyer servem de porta de entrada (PAYNE e RANKIN, 1969). A lesão granulomatosa típica desenvolve-se no intestino delgado e cólon. Há anergia durante os estágios terminais da doença.

O bacilo já foi isolado no sêmen, glândula bulbo uretral, próstata, vesículas seminais, glândula mamária, útero e feto (DOYLE, 1954; KOPECKY *et al.*, 1967; LARSEN e KOPECKY, 1970; LARSEN *et al.*, 1981; TAYLOR *e al.*, 1981). Embora o microorganismo possa ser isolado em cerca de 85% dos fetos de animais infectados (DOYLE, 1954), a infecção intra-uterina não parece ser uma causa significativa de infecção natural. Num estudo conduzido por MERKAL *et al.* (1975), 75% dos animais infectados foram gerados por mães saudáveis.

Durante a fase anérgica, muitas vezes o bacilo agrega-se nos cotilédones, podendo causar placentite e aborto (OMAR, *et al.*, 1967). Cerca de 20 a 40% dos fetos de vacas com sintomatologia foram infectados no útero (DOYLE, 1958; MCQUEEN e RUSSEL, 1979). Segundo SWEENEY *et al.* (1998), a cultura de tecidos fetais revelou-se positiva em 8,6% dos fetos cujas mães eram assintomáticas. Se a infecção intra-uterina ocorre no primeiro ou segundo trimestre da gestação, o feto tornar-se-á tolerante aos antígenos do *Mycobacterium paratuberculosis* (SCHULTZ, 1973).

O isolamento da micobactéria do sêmen no trato reprodutivo masculino e a sobrevivência após o processamento comercial do sêmen sugerem que a inseminação artificial ou a monta natural são potenciais vias de transmissão (LARSEN e KOPECKY, 1970; LARSEN *et al.*, 1981). Portanto, a transmissão ocorre mais frequentemente pela ingestão de água e alimentos contami-

nados com fezes, que contenham o agente. Os animais doentes podem disseminar cerca de 100 milhões de bacilos por grama de fezes (CHIODINI *et al.*, 1984).

Imunidade, patogênese e sintomatologia

Podemos classificar os animais infectados em clinicamente doentes, infectados subclínicamente e não infectados (Quadro 1) (CHIODINI *et al.*, 1984). Certamente, os animais infectados subclínicamente são o fator-chave para o controle e a erradicação da paratuberculose, e vários estudos têm mostrado que a maior parte dos animais com a forma subclínica da doença eliminam um pequeno número de colônias de *Mycobacterium paratuberculosis*. Acredita-se que animais que eliminem um número mais elevado de bacilos irão desenvolver a forma clínica mais rapidamente do que aqueles com baixa taxa de eliminação (GAY e SHERMAN, 1992). A prevalência dos casos subclínicos num rebanho infectado há algumas gerações tende a exceder a incidência de casos clínicos de 10:1 para 20:1 (JULIAN, 1975).

É importante destacar, novamente, o caráter subclínico ou inaparente da doença. WHITLOCK e BUERGELT (1996) estimaram que, num rebanho de 100 vacas adultas, a presença de um quadro clínico avançado (fase 4) indica a existência de 1 a 2 animais no estágio 3 (caso clínico moderado), 4 a 8 animais no estágio 2 (forma subclínica com a disseminação do agente por meio das fezes) e 10 a 14 animais na fase 1 (início do quadro subclínico). Isso significa que para cada caso clínico agudo, tem-se de 15 a 25 animais infectados.

Inicialmente há um predomínio da resposta celular, mediada principalmente por fagócitos mononucleares, que será substituída, com o progresso da doença, pela resposta humoral desencadeada pela liberação dos bacilos, contidos no interior dos macrófagos, quando da morte destes. Num estágio terminal da doença, ocorre o fenômeno de anergia, no qual as respostas celular e humoral não podem ser mais detectadas, o que parece estar relacionado com a liberação de determinados fatores solúveis provenientes de macrófagos (CHIODINI *et al.*, 1984).

O bacilo causador da paratuberculose não produz uma toxina ou fator de virulência similar ao do *Mycobacterium tuberculosis*, mas promove intensa migração de células inflamatórias, comprometendo o sistema vascular e linfático da região acometida. O espessamento do íleo por esse processo granulomatoso leva a uma disfunção intestinal conhecida como enteropatia com perda protéica, que está associada com baixos níveis de proteína sérica. A perda de plasma para o trato gastrointesti-

nal é responsável por 11 a 21% da perda total de nitrogênio, comparada à perda de 7% que ocorre num animal sadio (PATTERSON *et al.*, 1967). Esse baixo nível sérico de proteínas, especialmente a albumina, diminuirá a capacidade do animal em reter fluidos dentro dos vasos, desencadeando um processo edematoso, que é mais visível na região submandibular do animal.

A taxa de mortalidade está na faixa de 3 a 10% dos animais adultos. O período de incubação pode variar de 6 meses a 15 anos (MACINDOE, 1950); entretanto, a maioria dos animais acometidos situa-se na faixa dos 3 a 5 anos de idade. A doença em animais jovens é relativamente rara, ocorrendo somente em rebanhos com alta taxa de infecção associada com um manejo inadequado dos animais. A forma clínica é o estágio terminal de uma infecção crônica subclínica e geralmente é desencadeada por um fator estressante como parto, má nutrição, alta produção de leite, infecções parasitárias, dentre outros (MACINDOE, 1950; ALLEN *et al.*, 1968).

Os principais sintomas são emaciação progressiva e diarreia de consistência variável (CHIODINI *et al.*, 1984). Embora a diarreia possa ser intermitente, o animal geralmente morre num período que varia de semanas a alguns meses (GAY e SHERMAN, 1992) (Figuras 2 e 3).

(Fonte: www.vetmed.wisc.edu/pubs/johnes/index.html).



Figura 2. Animal com sintomas de paratuberculose.

(Fonte: www.vetmed.wisc.edu/pubs/johnes/index.html).



Figura 3. Edema submandibular.

As lesões intestinais nos bovinos caracterizam-se por uma mudança difusa granulomatosa, sem necrose, hiperêmica e, algumas vezes, com fibrose (BUERGELT *et al.*, 1978). Essas lesões são encontradas desde o duodeno até o reto, mas, na maioria das vezes, na porção terminal do íleo (Figura 4). As lesões também podem ocorrer em órgãos como o fígado, rins e linfonodos (HALLMAN e WITTER, 1933).

Diagnóstico

Atualmente existem oito testes diagnósticos disponíveis, dos quais três para a detecção do *Mycobacterium paratuberculosis*, quatro técnicas para detecção de anticorpos séricos e uma para a pesquisa de gama-interferon, que se relaciona à imunidade celular.

Nos estágios iniciais da infecção (sem a eliminação do bacilo por meio das fezes) todos animais apresentarão resultados negativos. Com o progredir da doença, a maioria dos animais infectados tornar-se-ão positivos. Os testes têm uma maior sensibilidade quando utilizados em animais com sinais clínicos (COLLINS, 1996).

Existem três testes principais (Quadro 2) utilizados rotineiramente no diagnóstico da paratuberculose, que podem ser solicitados pelos produtores para a identificação do problema na propriedade. Cada teste diagnóstico

(Fonte: www.vetmed.wisc.edu/pubs/johnes/index.html).

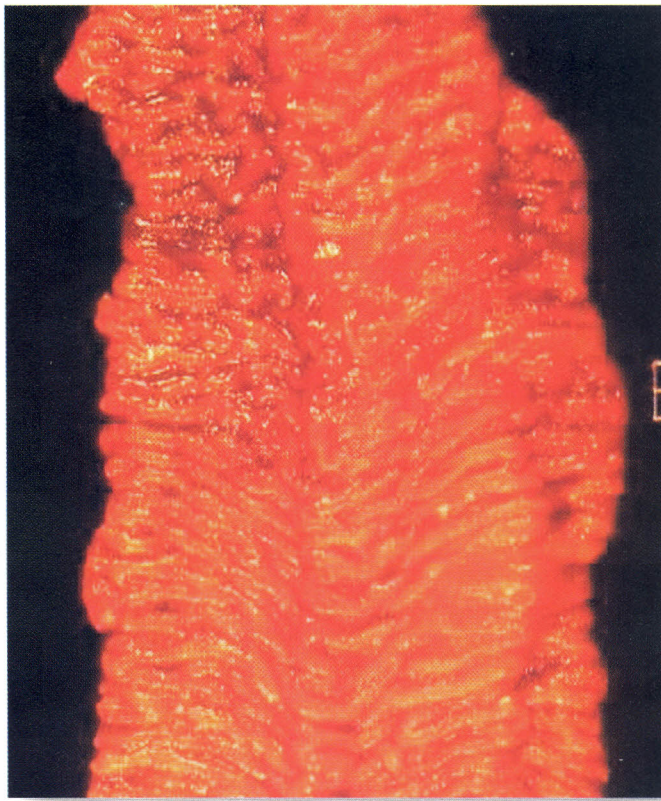


Figura 4. Lesões na submucosa do intestino

apresenta uma particularidade e serve para ser utilizado em situações específicas de cada rebanho de acordo com o programa a ser estabelecido pelo veterinário da fazenda. A seguir, são apresentados os diferentes métodos de diagnóstico existentes, com o seu respectivo custo atual nos EUA (COLLINS, 1996).

O diagnóstico por intermédio do teste de ELISA é o meio mais rápido e fácil para se fazer um levantamento da prevalência da doença na propriedade, podendo-se utilizar a cultura de fezes ou o teste de DNA para confirmar a presença do agente, naqueles animais positivos (COLLINS, 1996).

Prevenção e controle

Tendo em vista que a paratuberculose é uma doença altamente contagiosa e que as vacinas existentes até o momento são ineficazes, o controle e a erradicação devem-se basear em estratégias de manejo e descarte dos animais positivos. CHIODINI *et al.* (1984) e GAY e SHERMAN (1992) recomendam as seguintes medidas de controle:

- comprar animais somente de rebanhos livres da doença;
- testar todos os animais semestralmente;

Quadro 2 - Métodos de diagnóstico existente para a paratuberculose (COLLINS, 1996).

MÉTODO DE DIAGNÓSTICO	CARACTERÍSTICAS
Cultura de fezes	É possível isolar o agente em cerca de 12 a 16 semanas para obtenção do resultado, e custa em torno de US\$10 a US\$20 por amostra. A cultura é o método mais sensível para o diagnóstico da paratuberculose;
Teste de DNA nas fezes	A grande desvantagem deste teste é a necessidade de um número grande de <i>M. paratuberculosis</i> nas fezes (>10 ⁴ microorganismos/g de fezes), além de seu alto custo (em torno de US\$25 por amostra). O resultado pode ser obtido em 3 dias.;
Deteção de anticorpos anti-<i>M. paratuberculosis</i>	O ELISA ("Enzyme-linked immununosorbent assay") é considerado o teste mais acurado para o diagnóstico laboratorial da doença, sendo rápido (alguns dias), não muito caro (US\$ 5 por amostra) e capaz de detectar animais assintomáticos (forma subclínica). A desvantagem é sua sensibilidade, que é da ordem de 45 a 50%. Em outras palavras, um resultado negativo não elimina a possibilidade de que este animal esteja infectado (falso-negativo).

- todos os animais que estão eliminando o *Mycobacterium paratuberculosis*, e aqueles com sintomatologia clínica, assim como a sua última cria, deverão ser descartados para abate;
- manter o ambiente limpo para todas as categorias animais;
- as vacas deverão parir em ambiente separado dos outros animais;
- revolver o pasto nos locais de acúmulo de fezes, recolhendo-o com uma camada de terra;
- evitar utilizar o esterco como fertilizante para pastagens;
- roçar a pastagem, a fim de permitir uma maior exposição à luz solar;
- cercar áreas propensas à formação de lama e água estagnada;
- separar o bezerro da mãe logo após o parto;
- evitar o contato de implementos sujos com fezes com o alimento destinado aos animais;
- evitar o contato dos animais jovens com as fezes dos adultos, inclusive das vacas secas;
- evitar que os bezerros com menos de 30 dias entrem em contato com outros animais da mesma idade;
- usar sucedâneo do leite ou pasteurizar o leite fornecido ao bezerro e fornecer colostro somente de animais negativos;

- evitar que animais doentes trafeguem no local destinado ao parto (maternidade);
- isolar qualquer animal com os sintomas característicos de paratuberculose em local de superfície rígida, e de fácil limpeza, até que se descarte a possibilidade desta doença.

O propósito de tais medidas é reduzir o nível de contaminação ambiental, e proteger os animais da exposição ao microorganismo durante a fase de maior susceptibilidade.

Segundo GAY e SHERMAN (1992), a vacina contra o *M. paratuberculosis* apresenta resultados marginais, sendo administrada para animais com menos de 35 dias de idade. Os animais vacinados ficaram sensibilizados pelas tuberculinas aviária e mamífera por muitos anos e, portanto, não seriam indicadas para países com um programa de controle de tuberculose (GAY e SHERMAN, 1992). Vários estudos mostraram que a vacina não previne novas infecções, mas reduz o número de animais infectados, o número de organismos eliminados pelas fezes e o número de casos clínicos (SIGURDSSON, 1960; LARSEN *et al.*, 1978).

Incidência e perdas econômicas

Num estudo realizado nos Estados Unidos no período de 1983 a 1984, a paratuberculose acometeu 2,9% das vacas leiteiras descartadas (MERKAL *et al.*, 1987).

Outros autores mostraram uma prevalência de 17,1% (BRAUN *et al.*, 1990), 7,2% (WHITLOCK *et al.*, 1985) e 4,8% (COLLINS *et al.*, 1994), valendo-se do exame bacteriológico (cultura) e sorologia. COLLINS *et al.* (1994) estimaram que 34% dos rebanhos do Estado de Wisconsin nos Estados Unidos, têm, pelo menos, um animal positivo na propriedade. A paratuberculose apresenta prevalência crescente em países de pecuária tradicional como Austrália e Nova Zelândia, e raros são os casos em que foi possível a erradicação da doença em nível nacional, enquadrando-se neste caso apenas a Suécia (COLLINS e MANNING, 1995).

Em estudo feito pelo USDA (1997), em que foi demonstrado que 21,6% dos rebanhos estão infectados com o agente, e estimaram-se perdas que variam de US\$389 a US\$959 para cada caso clínico e US\$123 a US\$696 para cada animal assintomático. Para o cálculo desse prejuízo foram consideradas as perdas na produção de leite, no valor do bezerro, preço de descarte do animal (venda ou abate) e o preço de US\$26/ litro de leite.

No Brasil, a primeira descrição da doença ocorreu em touro importado da raça Holandesa, com o diagnóstico baseado em sintomas clínicos, lesões histopatológicas e identificação de bacilos ácido-álcool resistentes em esfregaços de mucosa intestinal (SANTOS e SILVA, 1956). Ainda que a literatura nacional apresente descrições da ocorrência de paratuberculose em casos isolados (PORTUGAL *et al.*, 1979; RAMOS *et al.*, 1986), não existem dados sobre a ocorrência da paratuberculose em rebanhos leiteiros no Brasil. Em estudo recente que avaliou a presença de anticorpos anti-*M. paratuberculosis* em rebanhos leiteiros do Estado de São Paulo, LARANJA-DA-FONSECA *et al.*, (1999) identificaram que dos 403 animais amostrados, 153 (37,9%) apresentaram anticorpos anti-*Mycobacterium paratuberculosis* e, das 20 fazendas amostradas, 19 (95%) tiveram pelo menos um animal positivo.

Os resultados desse estudo mostram que vacas leiteiras de diversas localidades do Estado de São Paulo apresentaram títulos de anticorpos anti-*Mycobacterium paratuberculosis*, existindo, assim, a necessidade de levantamentos epidemiológicos da doença, a fim de que se possa avaliar o real impacto da paratuberculose nos rebanhos brasileiros, objetivando-se, caso necessário, o desenvolvimento de programas de controle da paratuberculose bovina em nível nacional.

Potencial risco para a saúde pública

A relação da paratuberculose com uma doença que acomete o homem conhecida como Doença de

Crohn tem causado grande interesse na comunidade científica.

O *M. paratuberculosis* foi isolado por cultura e/ou técnica de PCR - "Polimerase Chain Reaction", em 50 a 75% dos pacientes humanos com a doença de Crohn (CHIODINI *et al.*, 1996), que é caracterizada por sintomas muito parecidos com os da doença de Johne, como diarreia crônica e perda de peso. A semelhança entre as duas enfermidades não se resume apenas à sintomatologia, mas também à epidemiologia, pois ambas são de caráter crônico, promovem lesões teciduais graves no epitélio intestinal e iniciam-se nos primeiros anos de vida. A paratuberculose é adquirida pela exposição do indivíduo susceptível ao *M. paratuberculosis*; já para a doença de Crohn isto ainda não está bem esclarecido (CHIODINI *et al.*, 1996).

Outro ponto de suma importância é a possível resistência do *M. paratuberculosis* à pasteurização. Num estudo conduzido na Grã-Bretanha foi possível identificar células intactas da bactéria (não foi feita a cultura bacteriana, a fim de confirmar a sua viabilidade) em 6,25% do leite vendido nos supermercados numa determinada época do ano (MILLAR *et al.*, 1994), sendo que em determinados períodos, 25% do leite amostrado foi positivo. Neste experimento utilizou-se a técnica de PCR que é um método altamente sensível para a identificação do *Mycobacterium paratuberculosis*.

Células viáveis de *Mycobacterium paratuberculosis* foram isoladas em laboratório, após a pasteurização (CHIODINI e TAYLOR, 1993; GRANT *et al.*, 1996). Já GRANT *et al.* (1996) não encontraram organismos viáveis de *Mycobacterium paratuberculosis* quando a carga de contaminação no leite foi menor (10 UFC/ml e 10 UFC/50ml). BROWN (1991) recomenda uma carga de pelo menos 10^8 - 10^9 UFC/ml nos experimentos que objetivem avaliar a sensibilidade térmica de um determinado microorganismo, portanto, se considerarmos a concentração acima citada, a grande maioria das pesquisas sobre o tema indicará que o agente é resistente à pasteurização rápida (HTST). Segundo HOPE *et al.* (1996), estudos envolvendo o efeito da pasteurização sobre a viabilidade de bactérias nocivas à saúde humana têm mostrado resultados conflitantes, pois na grande maioria deles não foram utilizados pasteurizadores de escala industrial associados com rebanhos naturalmente infectados.

Desta forma, ainda faltam estudos a respeito da provável carga mínima deste agente no leite cru para o desenvolvimento da doença em humanos, e várias pesquisas estão sendo desenvolvidas no momento para elucidar esta questão.

SUMMARY

Paratuberculosis or Johne's disease is an infectious disease characterized by an inflammatory granulomatous process in the intestinal wall of domestic and wild ruminants, reducing the feed digestibility and leading to a decrease in milk yield. In general, infected animals show persistent diarrhea and progressive weight loss. Even though there are some early reports on individual cases of paratuberculosis in Brazil, there are no data on the occurrence of this disease in herds. In a recent survey on the presence of antibodies against *Mycobacterium paratuberculosis* in dairy herds of the state of São Paulo, Laranja-da-Fonseca *et al.* (1999) reported that 153 (37.9%) of the 403 samples had antibodies against *Mycobacterium paratuberculosis* and 19 (95%) of the 20 farms surveyed had at least one positive animal. Results of this study show that dairy cows from several areas in the state of São Paulo had had antibodies against *Mycobacterium paratuberculosis*, suggesting a need for a broad study on the prevalence of the disease in Brazil.

Key words: dairy cow, paratuberculosis, *Mycobacterium paratuberculosis*, ELISA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ALLEN, W. M.; SABA, N.; PATTERSON, D. S. P. *Mycobacterium johnei* infection of cattle. The effect of corticotrophin and anabolic steroids. **Veterinary Record**, v.82, p.562-7, 1968.
- 2 - BRAUN, R. K.; BUERGELT, C. D.; LITTELL, R. C.; LINDA, S. B.; SIMPSON, J. R. Use of an enzyme-linked immunosorbant assay to estimate prevalence of paratuberculosis in cattle of Florida. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.196, n.8, p.1251-4, 1990.
- 3 - BROWN, W. L. Designing *Listeria monocytogenes* thermal inactivation studies for extended-shelf-life refrigerated foods. **Food Technology**, v.45, n.4, p. 152-3, 1991.
- 4 - BUERGELT, C. D.; HALL, C.; MCENTEE, K.; DUNCAN, J. R. Pathologic evaluation of paratuberculosis in naturally infected cattle. **Veterinary Pathology**, v.15, p.196-207, 1978.
- 5 - CHIODINI, R. J.; ROSSITER, C. A. Paratuberculosis: a potential zoonosis? **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.12, n.2, p.457-67, 1996.
- 6 - CHIODINI, R. J.; TAYLOR, H. The thermal resistance of *Mycobacterium paratuberculosis* in raw milk under conditions simulating pasteurization. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.5, p.629-31, 1993.
- 7 - CHIODINI, R. J.; VAN KRUININGEN, H. J. Eastern white-tailed deer as a reservoir of ruminant paratuberculosis. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.182, p.168-9, 1983.
- 8 - CHIODINI, R. J.; VAN KRUININGEN, H. J.; MERKAL, R. S. Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): The current status and future prospects. **The Cornell Veterinarian**, v.74, n.3, p.218-62, 1984.
- 9 - COLLINS, M. T. Diagnosis of paratuberculosis. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.12, n.2, p.357-71, 1996.
- 10 - COLLINS, M. T.; MANNING, E. J. B. Johne's disease - the international perspective. In: U.S. ANIMAL HEALTH ASSOCIATION ANNUAL MEETING. Reno (Nevada), 1995. **Proceedings**, p. 313-6, 1995.
- 11 - COLLINS, M. T.; SOCKETT, D. C.; GOODGER, W. J.; CONRAD, T. A.; THOMAS, C. B.; CARR, D. J. Herd prevalence and geographic distribution of, and risk factors for, bovine paratuberculosis in Wisconsin. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.204, n.4, p.636-41, 1994.
- 12 - DOYLE, T. M. Foetal infection in Johne's disease. **Veterinary Record**, v.70, p.238, 1958.
- 13 - DOYLE, T. M. Susceptibility to Johne's disease in relation to age. **Veterinary Record**, v.65, p.363-5, 1953.
- 14 - DOYLE, T. M. Isolation of Johne's bacilli from the udders of clinically infected cows. **British Veterinary Journal**, v.110, p.215-8, 1954.
- 15 - GAY, J. M.; SHERMAN, D. M. Factors in the epidemiology and control of ruminant paratuberculosis. **Veterinary Medicine**, p. 1133-9, 1992.

- 16 - GRANT, I. R.; BALL, H. J.; NEILL, S. D.; ROWE, M. T. Inactivation of *Mycobacterium paratuberculosis* in cow's milk at pasteurization temperatures. **Applied Environmental Microbiology**, v.62, n.2, p.631-6. 1996.
- 17 - HALLMAN, E. T.; WITTER, J. F. Some observations on the pathology of Johne's disease. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.83, p.159-87. 1933.
- 18 - HOPE, A. F.; TULK, P. A.; CONDRON, R. J. Pasteurization of *Mycobacterium paratuberculosis* In: **INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON PARATUBERCULOSIS**, 5. 1996. **Proceedings**, p. 368-73. 1996.
- 19 - JULIAN, R. J. A short review and some observations on Johne's disease with recommendations for control. **Canadian Veterinary Journal**, v.16, p.33-43. 1975.
- 20 - KOPECKY, K. E.; LARSEN, A. B.; MERKAL, R. S. Uterine infection in bovine paratuberculosis. **American Journal of Veterinary Research**, v.28, p.1043-5. 1967.
- 21 - LARANJA-DA-FONSECA, L. F.; SANTOS, M. V.; PEREIRA, C. C.; OLIVAL, A. A.; HEINEMANN, M. B.; RICHTZENHAIN, L. J. Identificação da presença de anticorpos contra *M. paratuberculosis* em rebanhos leiteiros do Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.66, p. 122, 1999. Supl.
- 22 - LARSEN, A. B.; KOPECKY, K. E. *Mycobacterium paratuberculosis* in reproductive organs and semen of bulls. **American Journal of Veterinary Research**, v.31, p.255-7.1970.
- 23 - LARSEN, A. B.; MERKAL, R. S.; CUTLIP, R. C. Age of cattle as related to resistance to infection with *Mycobacterium paratuberculosis*. **American Journal of Veterinary Research**, v.36, p.255-7. 1975.
- 24 - LARSEN, A. B.; MERKAL, R. S.; VARDAMAN, T. H. Survival time of *Mycobacterium paratuberculosis*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 7, p.549-51. 1956.
- 25 - LARSEN, A. B.; STALHEIM, O.H. V.; HUGHES, D. E.; APPELL, L. H.; RICHARDS, W. D.; HIRNES, E. M. *Mycobacterium paratuberculosis* in the semen and genital organs of a semen-donor bull. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.179, p.169-71. 1981.
- 26 - LARSEN, A. B.; MOYLE, A. I.; AIMES, E. M. Experimental vaccination of cattle against Paratuberculosis (Johne's disease) with killed vaccines: A controlled field study. **American Journal of Veterinary Research**, v.39, p.65-9. 1978.
- 27 - LOVELL, R.; LEVI, M.; FRANCIS, J. Studies on the survival of Johne's bacilli. **Journal of Comparative Pathology**, v.54, p.120-9. 1944.
- 28 - MACINDOE, R. H. F. What can we do about Johne's disease? **Australian Veterinary Medicine**, v.26, p.216-20. 1950.
- 29 - MCQUEEN, D. S.; RUSSEL, E. G. Culture of *Mycobacterium paratuberculosis* from bovine fetuses. **Australian Veterinary Journal**, v.55, p.203-4. 1979.
- 30 - MERKAL, R. S.; CURRAN, B. J. Growth and metabolic characteristics of *Mycobacterium paratuberculosis*. **Applied Microbiology**, v.28, p.276-9. 1974.
- 31 - MERKAL, R. S.; LARSEN, A. B.; BOOTH, G. D. Analysis of the effects of inapparent bovine paratuberculosis. **American Journal Veterinary Research**, v.36, p.837-8. 1975.
- 32 - MERKAL, R. S.; WHIPPLE, D. L.; SACKS, J. M.; SNYDER, G. R. Prevalence of *Mycobacterium paratuberculosis* in ileocecal lymph nodes of cattle culled in the United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.190, n.6, p.676-80. 1987.
- 33 - MERKAL, R. S.; McCULLOUGH, W. G.; TAKAYAMA, K. Mycobactins, the state of the art. **Bulletin of Institute Pasteur**, v.79, p.251-9. 1981.
- 34 - MILLAR, D. S.; FOR, J.; SANDERSON, J. D.; TIZARD, M. L. V.; KEMPESELL, K.; LAKE, R. J.; HERMON-TAYLOR, J. IS900 PCR testing for *Mycobacterium paratuberculosis* in retail supplies of whole pasteurized cow's milk in England and Wales. In: **INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON PARATUBERCULOSIS**, 4. 1994. **Proceedings**, 1994.
- 35 - NAKAMATSU, M.; FUJIMOTO, Y.; SATOH, I. I. The pathological study of paratuberculosis in goats, centered around the formation of remote lesions. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v.16, p.103-19. 1968.
- 36 - OMAR, A. R.; LIM, S. Y.; RETNASABAPATHY, A. Placentitis and abortion in a cow probably caused by *Mycobacterium johnei*. **Kajian Veterinary**, v.1, p.39-43. 1967.
- 37 - PATTERSON, D. S. P.; ALLEN, W. M.; LLOYD, M. K. Clinical Johne's disease as a protein losing enteropathy. **Veterinary Record**, v.80, p.717-8. 1967.
- 38 - PAYNE, J. M.; RANKIN, J. D. The pathogenesis of Johne's disease in calves. **Research Veterinary Science**, v.2, p.167-74. 1969.
- 39 - PORTUGAL, M. A. S. C.; PIMENTEL, J. N.; SALIBA, A. M.; BALDASSI, L.; SANDOVAL, E. F. D. Ocorrência de paratuberculose no Estado de Santa Catarina. **Biológico**. v. 43, p. 19-24, 1979.
- 40 - RAMOS, E. T.; POESTER, F.P.; CORREA, B. L.; OLIVEIRA, S. J.; RODRIGUES, N. C.; CANABARRO, C. E. Paratuberculose em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**. v.34, p.28-32, 1986.
- 41 - RANKIN, J. D. The experimental infection of cattle with *Mycobacterium johnei*. I. Adult cattle inoculated intravenously. **Journal of Comparative Pathology**, v.71, p.6-9. 1961.

- 42 - RANKIN, J. D. The experimental infection of cattle with *Mycobacterium johnei*. II. Calves maintained in an infectious environment. **Journal of Comparative Pathology**, v.71, p.10-5. 1961a.
- 43 - SANTOS, J. A.; SILVA, N. C. Sobre a 1ª. observação de paratuberculose no Brasil. **Boletim da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária**. v.24, p.5-12, 1956.
- 44 - SCHULTZ, R. Developmental aspects of the fetal bovine immune response. A review. **Cornell Veterinarian**, v.63, p.507-35. 1973.
- 45 - SIGURDSSON, B. A killed vaccine against Paratuberculosis (Johne's disease in sheep). **American Journal of Veterinary Research**, v.21, n.1, p.54-67. 1960.
- 46 - SMITH, K. Electron microscopical observations on *Mycobacterium johnei*. **Research Veterinary Science**, v. 10, p.1-3. 1969.
- 47 - STREETER, R. N.; HOFFSIS, G. F.; BECH-NIELSEN, S. T. Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from colostrum and milk of subclinically infected cows. **American Journal of Veterinary Research**, v.56, p.1322-4. 1995.
- 48 - SWEENEY, R. W. Transmission of paratuberculosis. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.12, n.2, p.305-12. 1996.
- 49 - SWEENEY, R. W.; WHITLOCK, R. H.; ROSENBERGER, A. E. *Mycobacterium paratuberculosis* cultured from milk and supramamary lymph nodes of infected asymptomatic cattle. **Journal of Clinical Microbiology**, v.30, p.166-71. 1998.
- 50 - TAYLOR, T. K.; WILKS, C. R.; MCQUEEN, D. S. Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from milk of a cow with Johne's disease. **Veterinary Record**, v.108, p.532-3. 1981.
- 51 - THOEN, C. O.; RICHARDS, W. D.; JARNAGIN, J. L. Mycobacteria isolated from exotic animals. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.170, p.987-90. 1977.
- 52 - USDA. United States Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. National Animal Health Monitoring System. **Johne's disease on US Dairy Operation**. Fort Collins, CO. No. N245.1097. 1997.
- 53 - USDA. United States Department of Agriculture. Laboratory Methods in Veterinary Mycobacteriology for the isolation and identification of Mycobacteria. Mycobacteriology Unit, National Veterinary Services Laboratories, APHIS. USDA. Ames, IA. 1974.
- 54 - VARDAMAN, T. H. The effects of various chemical agents on the viability of *Mycobacterium paratuberculosis* in vitro. **American Journal of Veterinary Research**, v.15, p.159-63. 1954.
- 55 - WHITLOCK, R. H.; BUERGELT, C. Preclinical manifestation of paratuberculosis (including pathology). **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.12, n.2, p.345-56. 1996.
- 56 - WHITLOCK, R. H.; HUTCHINSON, L. T.; *et al.* Prevalence and economic consideration of Johne's disease in the northeastern U.S. In: **ANNUAL MEETING OF THE U.S. ANIMAL HEALTH ASSOCIATION**, 89, Milwaukee, 1985. **Proceedings**, p. 484-90. 1985.
- 57 - WITHERS, F. W. Incidence of the disease. **Veterinary Records**, v.71, p.1150-3. 1959.

